

Державний заклад
«Дніпропетровська медична академія»

Центральна науково-дослідна лабораторія

Науково-дослідний інститут
медико-біологічних проблем ДЗ «ДМА»

Збірник запатентованих робіт ЦНДЛ 1963 – 2011

Під редакцією Г.В. Дзяка, О.Л. Дроздова

Дніпропетровськ
2011 р.

УДК _____
ББК _____
Д (П) _____

Рекомендовано до друку _____

Укладачі:

академік НАМН України, професор Г.В. Дзяк;
доктор медичних наук, професор О. Л. Дроздов;
патентний повірений України, ст. науковий співробітник В.В. Білозуб;
патентознавець, науковий співробітник О.А. Рясков.

Дніпропетровськ, «_____», 2011-_____ с.

В даній публікації зібрані найбільш вагомі результати науково-дослідних робіт провідних співробітників ЦНДЛ ДДМА, зареєстрованих в якості об'єктів інтелектуальної власності (авторські свідоцтва, патенти на винаходи та корисні моделі та інш.) за період з моменту заснування ЦНДЛ в 1963 році до нашого часу.

Видання розраховано на лікарів, наукових робітників, викладачів, спеціалістів і студентів медичних вищих навчальних закладів, науково-дослідних установ та закладів охорони здоров'я.

ISBN _____

© Дзяк Г.В., Дроздов О.Л., Білозуб В.В., Рясков О.А., 2011

©_____, 2011

ЗМІСТ

	стор.
ЗМІСТ.....	3
ПЕРЕДМОВА.....	4
Тлумачення індексів патентної документації.....	6
Частина 1. Період 1963-1991 роки (авторські свідоцтва СРСР).....	7
Частина 2. Період 1992-2011 роки (патенти на винаходи та корисні моделі України та Росії).....	70
Свідоцтва про реєстрацію авторського права на твір.....	236

ПЕРЕДМОВА

1 вересня 2011 року, на передодні 95-річчя Дніпропетровської державної медичної академії, Центральну науково-дослідну лабораторію Академії, в зв'язку із істотним зростанням обсягів наукової роботи та необхідністю поширення виконання інноваційних та біотехнологічних досліджень, було реорганізовано в Науково-дослідний інститут медико-біологічних проблем ДЗ «ДМА».

Центральна науково-дослідна лабораторія (ЦНДЛ) було засновано у 1963 р. з метою створення необхідних умов для проведення наукових розробок з актуальних теоретичних, гігієнічних і клінічних проблем та підготовки наукових кадрів вищої (кандидати та доктори наук) кваліфікації. За 48 років її існування вона стала справжньою кузнею кадрів для свого вищого навчального закладу, на її базі було підготовлено понад 80 докторів і 250 кандидатів медичних наук.

Починаючи з 2001 року науковий потенціал лабораторії все ширше залучається до безпосереднього виконання науково-дослідних робіт, як кафедр Академії, так і державних науково-технічних програм. Така зміна пріоритетів лабораторії примусила її наукових працівників приймати активну участь у конкурсах по виконанню НДР в галузі охорони здоров'я. В наслідок цього за період з 2005 по 2011 рік на базі ЦНДЛ було виконано та виконується 8 держбюджетних науково-дослідних робіт, 1 фрагмент державної науково-технічної програми, 1 госпрозрахункова НДР з Фармакологічним Центром МОЗ України, 2 теми за державним замовленням та 4 госпрозрахункові теми.

На всіх етапах існування ЦНДЛ виконання її завдань супроводжувалося створенням об'єктів інтелектуальної власності (оригінальних діагностичних та дослідницьких пристроїв, зубопротезних матеріалів, лікарських засобів, способів оцінки стану органів і систем організму, моделювання патологічних станів і процесів).

На цьому напрямку роботи, як у краплині води, відбилася інтенсифікація діяльності лабораторії за сучасних умов. Якщо з 1963 до 1993 р.р. було отримано 21 авторське свідоцтво СРСР, то з 1994 по 2011 р.р. отримано понад 50 патентів України, 3 патенти Російської Федерації та 12 свідоцтв на авторське право. Основним принципом побудови збірника став хронологічний порядок оприлюднення описів авторських свідоцтв, патентів та свідоцтв на авторське право.

Зрозуміло, що проведення цієї роботи безпосередньо пов'язане з особистостями її виконавців, тому при створенні цього збірника ми вважали доцільним навести біографічні довідки провідних розробників найважливіших груп патентів, створених на базі ЦНДЛ, які передують запатентованим роботам.

Ще однією особливістю презентуемого видання є його двомовність, яка зумовлена, насамперед, тим, що істотна частка наведених патентів оформлена на російській мові (мові оригіналу). Такий стан речей віддзеркалює наявність тісних міжнародних зв'язків притаманних сучасній науці, включаючи медицину.

В зв'язку із вище зазначеним, розробники цього видання сподіваються, що воно виконає роль віддання шани нашим попередникам і колегам в момент реорганізації лабораторії та відкриє широкий, плідний шлях для створеного НДІ медико-біологічних проблем.

Г. В. Дзяк, О. Л. Дроздов,
В. В. Білозуб, О. А. Рясков.

Тлумачення цифрових кодів патентної документації

Кожний елемент бібліографічних даних патентного документу супроводжується кодом ІНІД, який подається перед ним у круглих дужках відповідно до стандарту BOIB ST.9.

- (10)** – вид та номер охоронного документу СРСР;
- (11)** – номер авторського свідоцтва СРСР, номер патенту (декларативного патенту);
- (12)** – зазначення звичайною мовою виду документу;
- (13)** – код виду документу;
- (19)** – код держави публікації;
- (21)** – номер заявки;
- (22)** – дата подання заявки;
- (24)** – дата, з якої є чинними права на винахід;
- (31)** – номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції;
- (32)** – дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції;
- (41)** – дата публікації відомостей про заявку;
- (46)** – дата публікації відомостей про видачу патенту;
- (51)** – індекс(и) МПК;
- (54)** – назва винаходу;
- (56)** – перелік документів, взятих до уваги експертизою;
- (57)** – формула винаходу;
- (71)** – винахідник(и);
- (72)** – власник(и), код держави

Частина 1

Період 1963-1991 роки

(авторські свідоцтва СРСР)

Ушаков В'ячеслав Федорович

Біофізик, токсиколог, доктор біологічних наук, професор, 1938 року народження. У 1967 р. закінчив фізичний факультет Дніпропетровського державного університету.

З 1967 до 1972 р. працював асистентом кафедри фізики ДМІ, а з 1972 р. - науковим співробітником Центральної науково-дослідної лабораторії ДМІ. У лабораторії він проводив електронно-мікроскопічні дослідження міжклітинних контактів, розробив новий метод дослідження механічних властивостей ультраструктур контактів гепатоцитів. У 1978 р. захистив кандидатську дисертацію "Метод дослідження механічних властивостей ультраструктур контактів гепатоцитів".

У 1982 р. організував відділ біоконтролю і був його керівником до 1987 р. Науковим напрямком відділу біоконтролю було дослідження небезпеки, токсичності та характеру шкідливої дії промислових речовин, розробка державних стандартів та нових методів гігієнічного- нормування. Обґрунтовано близько 20 нових гігієнічних нормативів, розроблено кілька нових методів оцінки шкідливості речовин, розроблена та створена унікальна автоматизована система "Політест" для оцінки стану лабораторних тварин, виконані роботи з 10 госпрозрахункових тем.

У 1993 р захистив докторську дисертацію, в якій збудована механічна модель міжклітинного контакту, відкрив неспецифічну реакцію контактів клітин і на цій теоретичній основі розробив новий підхід до нормування промислових речовин.

З 1987 до 2001 р завідував кафедрою медичної і біологічної фізики ДМІ. З 2001 р. - професор кафедри.

Автор 104 наукових праць та 6 авторських свідоцтв. Учасник ВДНГ СРСР, співавтор першої у Радянському Союзі монографії по міжклітинних контактах. Був членом правління

Союз Советских
Социалистических
Республик



Государственный комитет
Совета Министров СССР
по делам изобретений
и открытий

Всесоюзная
патентно-техническая
библиотека ВВА

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(11) 455264

(61) Зависимое от авт. свидетельства —

(22) Заявлено 10.01.73 (21) 1871974/31-16

с присоединением заявки № —

(32) Приоритет —

Опубликовано 30.12.74. Бюллетень № 48

Дата опубликования описания 11.02.75

(51) М. Кл. G 01n 1/28
G 01n 33/16

(53) УДК 519.25:576.31
(088.8)

(72) Авторы
изобретения

В. И. Архипенко, В. Ф. Ушаков, Г. А. Чуич и Л. В. Гербильский

(71) Заявитель

Днепропетровский медицинский институт

(54) СПОСОБ ОЦЕНКИ РЕПАРАЦИИ ИЗОЛИРОВАННЫХ КЛЕТОК

1

Изобретение относится к области медицины. Известен способ оценки репарации изолированных клеток путем повреждения клеток и определения степени их восстановления.

Однако известный способ является трудоемким и не обеспечивает необходимой точности.

С целью упрощения процесса исследования и повышения точности по предлагаемому способу суспензию исследуемых клеток делят на две равные части, повреждают клетки одной части суспензии непрерывно, а другой — с интервалами при идентичных интенсивности и длительности повреждающего воздействия в обоих случаях с последующим сравнением количества целых клеток обеих частей.

Способ оценки репарации изолированных клеток осуществляют следующим образом.

Готовят суспензию клеток печени крыс по общепринятой методике. Делят суспензию на две равные части. Определяют количество клеток в первой (N_1) и во второй (N_2) частях суспензии с помощью камеры Горяева.

Помещают первую часть суспензии в устройство для нанесения повреждений клеткам. При этом часть клеток разрушается. Освобождают устройство от первой части суспензии, промывают его и заполняют второй частью суспензии. Наносят повреждения второй части.

2

Определяют количество клеток оставшихся целыми в первой (n_1) и во второй (n_2) частях суспензии с помощью камеры Горяева.

Количественно оценивают репарацию по формуле

$$K = \frac{n_2}{N_2} - \frac{n_1}{N_1},$$

где K — показатель репарации.

10 Проведен цикл исследований на клетках различных клеточных систем: тканевых — гепатоцитах; культуральных — фибробластах и свободно живущих одноклеточных организмах *Paramecium caudatum*.

15 Получены следующие результаты: показана способность клеток клеточных систем к быстрым репараторным процессам, имеющим место в промежутках 30—60 сек.; подавление синтетических процессов аурантином вызывает понижение уровня репараторной реакции гепатоцитов крыс; репараторная способность клеток млекопитающих (гепатоциты крыс) зависит от уровня гормонов, так как введение преднизолона повышает показатель репарации.

25 Действие преднизолона осуществляется через генетический аппарат гепатоцитов, так как РНК, выделенная из печени крыс, получавших преднизолон, имитирует действие преднизолона.

Кратковременное (до 10 мин.) воздействие низкой температуры (0°C) понижает обратимо уровень репараторной реакции *Paramecium caudatum*. Длительное (более 10 мин) воздействие (0°C) вызывает необратимое снижение репараторной способности парameций.

Предмет изобретения

Способ оценки репарации изолированных клеток путем повреждения клеток и определе-

ния степени их восстановления, отличающийся тем, что, с целью упрощения процесса исследования и повышения точности, суспензию исследуемых клеток делят на две равные части, повреждают клетки одной части суспензии непрерывно, а другой — с интервалами при идентичных интенсивности и длительности повреждающего воздействия в обоих случаях с последующим сравнением количества целых клеток обеих частей.

Союз Советских
Социалистических
Республик



Государственный комитет
Совета Министров СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(11) 545335

(61) Дополнительное к авт. свид-ву —

(22) Заявлено 24.05.74 (21) 2028503/13

с присоединением заявки № —

(23) Приоритет —

Опубликовано 05.02.77. Бюллетень № 5

Дата опубликования описания 03.03.77

(54) М. Кл.² А 61В 10/00
G 01N 33/16

(53) УДК 616.014.464
(088.8)

(72) Авторы
изобретения

(71) Заявитель

Д. Г. Крыжановский и Е. Л. Эркес

Днепропетровский ордена Трудового Красного Знамени
медицинский институт

(54) СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ КИСЛОРОДНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

1

Изобретение относится к биохимии и может быть использовано в клинической практике.

Известен способ определения гипоксических состояний в реанимации, который заключается в том, что о степени гипоксии судят по изоферментам лактатдегидрогеназы [1].

Однако известным способом не всегда возможно выявить начальные стадии кислородной недостаточности.

Целью изобретения является выявление начальных стадий кислородной недостаточности.

Эта цель достигается тем, что определяют в эритроцитах с помощью электрофореза дополнительную анодную фракцию изофермента лактатдегидрогеназы, расположенную между лактатдегидрогеназой — 2 (ЛДГ₂) и лактатдегидрогеназой — 3 (ЛДГ₃), при содержании которой свыше 4% от общей активности диагностируют раннюю стадию гипоксии.

Исследование проводят в камере для электрофореза с применением охлаждения при использовании агарового носителя и медиальвероналового буфера (рН 8,6, ионная сила 0,06) с подбором оптимальных концентраций гемолизата эритроцитов, режима проведения электрофореза и условий проведения энзим-реакции.

Гемолизат эритроцитов получают из гепаринизированной крови, лишенной центрифугированием плазмы, лейкоцитов и отмытых трижды

2

охлажденным гепаринизированным физиологическим раствором (5 F° гепарина на 1 мл раствора) разведением дважды дистиллированной водой (1:10) с последующим центрифугированием (20 мин при 3000 об/мин) для осаждения стромы. Такое разведение обеспечивает достаточное количество белка-фермента для проведения электрофореза. Гемолизаты, полученные разведением 1:3, 1:5, дают после окраски фореграмм более интенсивные, но менее четкие границы раздела фракций. Более разведенные гемолизаты не обеспечивают выявления катодных фракций, содержание которых в эритроцитах низкое.

Агаровый гель готовят из вымороженных сортов агара (10 г) после предварительной очистки путем промывания вначале водопроводной водой (5 дней), затем воду сливают, заливают дистиллированной водой (500 мл) и агар расплавляют, поместив колбу в водяную баню. Расплавленный агар в теплом виде фильтруют через ватно-марлевый фильтр, центрифугируют при 3000 об/мин до полного застывания. Нижний сегмент, содержащий загрязненные вещества, отбрасывают. Измельченные (1×1 см) кубики агара отмывают дистиллированной водой 3—5 дней. Воду меняют ежедневно. После чего агар повторно расплавляют, центрифугируют и осадок вновь отбрасывают. Агар сохраняют в холодильнике.

ке. Перед опытом агар расплавляют на водяной бане и смешивают с равным объемом медиал-веронального буфера (рН 8,6). После смешения буфера и агара концентрация агара 1%, ионная сила 0,06.

Перед электрофорезом теплый раствор агарового геля наносят на 9 предметных стекол (26×76 мм), чтобы образовался слой геля толщиной 2 мм.

Разделение изоферментов продолжается 3—3,5 ч при температуре 0—2°C, сила тока 55—60 мА, напряжение 90 В.

После окончания электрофореза предметные стекла (9) со слоем агара переносят в кювету из органического стекла и поверх агарового носителя наливают приготовленную непосредственно перед инкубацией смесь.

Состав инкубационной смеси: лактат натрия (0,2 М раствор 3,5 мл, рН 7,0); никотинамидадениндинуклеотид (НАД) (25 мг в 2 мл воды); нитросиний тетразолит (15 мг в 2 мл воды); цианистый натрий или цианистый калий (3 мл 0,05 М раствор в фосфатном буфере, рН 7,4); феназинметасульфат (2 мг в 2 мл воды); фосфатный буфер, рН 7,4 (50 мл), инкубация в этой смеси продолжается 120—140 мин при 37°C. После инкубации субстратную смесь сливают и электрофореграммы несколько раз промывают дистиллированной водой, фиксируют 2 ч в смеси: уксусная кислота; этиловый спирт; вода (5:70:25). Затем предметные стекла с агаровым гелем осторожно извлекают и агаровым слоем вниз кладут на тройной слой хроматографической бумаги. Через 12—16 ч из агарового геля образуется сухая пленка, плотно прилегающая к предметному стеклу.

Активность изоферментов оценивают после денситометрии, либо фотометрии и расчета относительной активности в процентах.

Наблюдениями группы больных в 27 человек с поражением бронхо-легочного аппарата в возрасте от 25 до 40 лет и контрольной группы в 25 человек в возрасте от 17 до 40 лет установлено, что использование предлагаемого способа диагностики выявило у клинически здоровых лиц в возрасте от 17 до 40 лет дополнительную фракцию лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в количестве $3,30 \pm 0,33\%$ от всей активности ЛДГ эритроцитов ($P < 0,001$).

У больных уже в начальных стадиях кислородной недостаточности увеличение этой фракции достигает более 100—120%.

Таким образом, увеличение содержания дополнительной анодной фракции изофермента ЛДГ, расположенной между ЛДГ₂ и ЛДГ₃, позволяет судить о гипоксии в клинически скрытых формах дыхательной недостаточности.

Формула изобретения

Способ диагностики кислородной недостаточности, заключающийся в определении активности гликолитических ферментов, отличающийся тем, что, с целью выявления начальных стадий кислородной недостаточности, определяют в эритроцитах с помощью электрофореза дополнительную анодную фракцию изофермента лактатдегидрогеназы, расположенную между лактатдегидрогеназой — 2 и лактатдегидрогеназой — 3, при содержании которой свыше 4% от общей активности диагностируют раннюю стадию гипоксии.

Источник информации, принятый во внимание при экспертизе:

1. Маркелов И. М. «Оценка активности изоферментов в аспекте современных проблем реанимации. Автореферат докторской диссертации, Л., 1971, 3.

Котляров Віталій Степанович

Анатом, гістолог, доктор медичних наук, професор, 1952 р. народження. У 1975 р. закінчив лікувальний факультет ДМІ і з 1975 до 1984 р. працював асистентом на кафедрі анатомії. У 1980 р. захистив кандидатську дисертацію "Зміни термінального кровоносного русла та мікрогемоциркуляції у деяких сполучних утвореннях під дією ультразвуку", а у 1990 р. - докторську "Експериментально-морфологічне дослідження порівняльної дії ультразвуків різної частоти на рівні гістофізіологічної мікросистеми".

З 1984 до 1992 р. - начальник науково-дослідного центру, з 1992 до 1999 р. - професор кафедри гістології. З 1981 до 1993 р. замісник завідувачого патентним відділом ДДМА

Наукові напрямки:

1) розробка нових пристроїв та способів для вивчення кровообігу у мікроскопічних кровоносних судинах та лімфатичної системи організму, які значно підвищують рівень наукових досліджень та діагностики захворювань серцево-судинної системи організму;

2) вивчення механізму біологічної дії та розробка нових пристроїв для лікувального застосування ультразвуку, зокрема для підвищення ефективності лімфотропної терапії.

Автор біля 200 наукових праць, 1 відкриття, 14 винаходів, 74 раціоналізаторських пропозицій, із яких 8 прийняті для широкого використання МОЗ України як галузеві пропозиції. Автор першого вітчизняного винаходу в галузі камерної техніки для вивчення мікроциркуляції крові та лімфи в мікроскопічних судинах.

Союз Советских
Социалистических
Республик



Государственный комитет
Совета Министров СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(11) 564857

(61) Дополнительное к авт. свид-ву —

(22) Заявлено 19.03.76 (21) 2335839/13

с присоединением заявки № —

(23) Приоритет —

Опубликовано 15.07.77. Бюллетень № 26

Дата опубликования описания 23.08.77

(51) М. Кл.² А 61В 5/02

(53) УДК 615.475(088.8)

(72) Авторы
изобретения
(71) Заявитель

С. Е. Стебельский, И. В. Юрченко и В. С. Котляров
Днепропетровский ордена Трудового Красного Знамени
медицинский институт

(54) КАМЕРА ДЛЯ ВИТАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ

1

Изобретение относится к медицинской технике, в частности к камерам для витальной микроскопии.

Известна камера для витальной микроскопии, состоящая из двух подвижно соединенных прозрачных иллюминаторов [1]. Однако известное устройство не позволяет измерять кровяное давление в наблюдаемых микрососудах без нарушения микроциркуляции.

Целью изобретения является измерение кровяного давления в наблюдаемых микрососудах без нарушения микроциркуляции. В описываемой камере это достигается тем, что она содержит прозрачную эластичную мембрану, закрепленную на внутренней стороне одного из иллюминаторов, устройство для нагнетания газа с регистратором давления, соединенное с пространством под мембраной, и систему терморегуляции нагнетаемого воздуха.

На фиг. 1 изображена описываемая камера, общий вид; на фиг. 2 — блок-схема камеры и приспособлений для измерения кровяного давления.

Камера содержит два подвижно закрепленных прозрачных иллюминатора 1 и 2, прозрачную эластичную мембрану 3, закрепленную на внутренней стороне иллюминатора 1, устройство 4 для нагнетания газа с регистратором 5 давления, соединенное с пространством

2

под мембраной 3, и систему 6 терморегуляции нагнетаемого воздуха.

Для измерения кровяного давления в наблюдаемых микрососудах в пространство между мембраной 3 и иллюминатором 1 устройством 4 через штуцер 7 нагнетают воздух до тех пор, пока распрямляющаяся мембрана не пережмет просвет наблюдаемого в микроскоп сосуда. Показания регистратора 5 давления в момент пережатия микрососуда и будут соответствовать внутрисосудистому давлению. Для предупреждения расстройств микроциркуляции и искажения получаемых результатов за счет изменения температуры наблюдаемого участка ткани, вызванного нагнетанием холодного воздуха, транзисторным термодатчиком 8 регистрируют температуру заключенного в просвет камеры участка ткани, показания которого поступают на терморегулятор 9.

Блок 10 содержит термоэлемент для нагревания воздуха и второй термодатчик и поддерживает температуру нагнетаемого воздуха в точном соответствии с показаниями термодатчика 8.

Применение пружинных ограничителей 11 позволяет произвольно регулировать просвет щелевидного пространства между иллюминаторами и тем самым избежать дополнитель-

ного сдавливания микрососудов, неизбежного при несоответствии толщины подкожной жировой клетчатки и щелевидного пространства в известных камерах с жесткой фиксацией иллюминаторов.

Описываемая камера позволяет наблюдать морфологические особенности микроциркуляции и одновременно регистрировать кровяное давление в наблюдаемых микрососудах без нарушения микроциркуляции, причем давление можно регистрировать неоднократно, на протяжении всего срока функционирования прозрачной камеры.

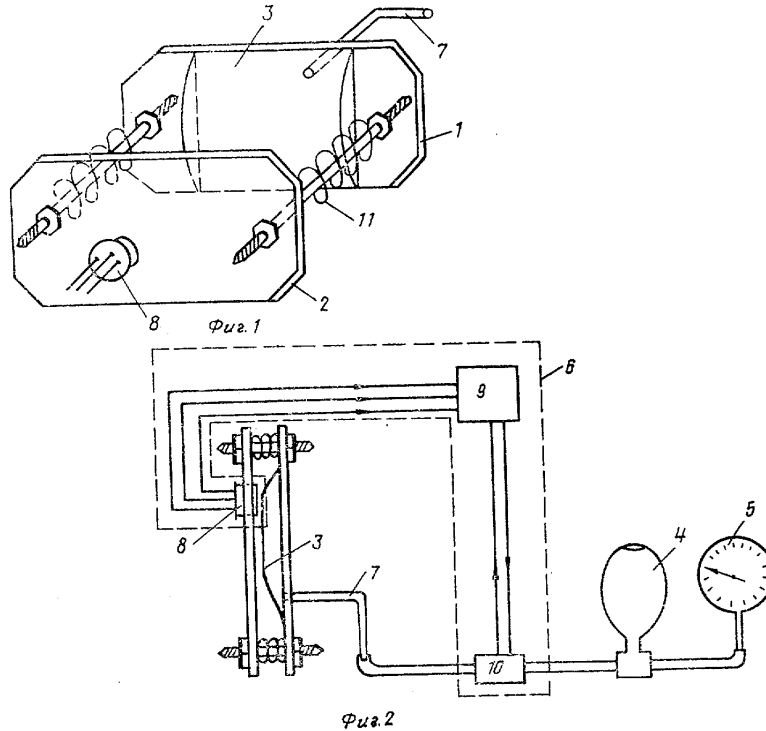
Формула изобретения

Камера для витальной микроскопии, содержащая два подвижно закрепленных прозрач-

ных иллюминаторов, отличающаяся тем, что, с целью измерения кровяного давления в наблюдаемых микрососудах без нарушения микроциркуляции, она содержит прозрачную эластичную мембрану, закрепленную на внутренней стороне одного из иллюминаторов, устройство для нагнетания газа с регистратором давления, соединенное с пространством под мембраной и систему терморегуляции нагнетаемого воздуха.

Источник информации,
принятый во внимание при экспертизе

1. Барковский В. С. Техника вживления прозрачной камеры в кожную складку спины у мыши. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии, 1975, 2, с. 103—106.



Союз Советских
Социалистических
Республик



Государственный комитет
СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(61) Дополнительное к авт. свид-ву -

(22) Заявлено 01.11.77 (21) 2538410/28-13

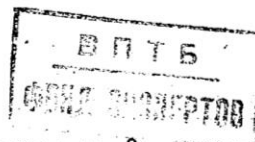
с присоединением заявки № -

(23) Приоритет -

Опубликовано 15.05.79. Бюллетень № 18

Дата опубликования описания 15.05.79

(11) 662070



(51) М. Кл.²

A 61 B 10/00
G 01 N 1/28

(53) УДК 615.475
(088.8)

(72) Автор
изобретения

В. С. Котляров

(71) Заявитель

Днепропетровский ордена Трудового Красного Знамени
медицинский институт

(54) СПОСОБ ФИКСАЦИИ КИШЕЧНОЙ ПЕТЛИ ПРИ ВИТАЛЬНОЙ
МИКРОСКОПИИ

1

Изобретение относится к области медицины и может быть использовано при изучении микроциркуляции, нервных структур и других образований в брыжейке лабораторных животных.

Известен способ фиксации кишечной петли при витальной микроскопии, включающий ее выделение и обездвиживание [1].

Однако при известном способе возможно нарушение микроциркуляции в кишечной петле и близлежащих сегментах брыжейки.

Целью изобретения является предотвращение нарушения микроциркуляции в кишечной петле и близлежащих сегментах брыжейки.

Цель достигается тем, что по предлагаемому способу по свободному краю кишки наносят разрез, в которые вставляют пружинный каркас проводят его через участок кишки, соответствующий наблюдаемому брыжеечному сегменту, и фиксируют его концы в зажимах.

Способ осуществляют следующим образом.

При витальной микроскопии брыжейки у животных, находящихся под наркозом, через срединный разрез передней брюшной стенки извлекают тонкую киш-

2

ку. Для фиксации кишечной петли, отступая на 1-2 брыжеечных сегмента в обе стороны от исследуемого участка, по свободному краю кишки наносят небольшие разрез, в которые вставляют пружинный каркас, состоящий из круглой пружины, покрытой поролоном. Концы пружины фиксируют в зажимах подвижно закрепленных вокруг вертикальных осей. Регулируют высоту подъема кишечной петли, при которой брыжейка не перегибается у края столика световода. Затем, поворачивая концы пружины каркаса, достигают натяжения кишечной петли, при котором практически не слышится перистальтика кишечника и достигается равномерное распрямление брыжеечного сегмента на предметном столике-световоде.

При витальной микроскопии в брыжейке не наблюдается каких-либо расстройств, микроциркуляции, смещения исследуемого сегмента брыжейки под влиянием перистальтических движений кишечника, а также расстройства микроциркуляции в участке кишечной петли, соответствующем исследуемому брыжеечному сегменту.

Предлагаемый способ позволяет обеспечить надежную фиксацию кишечной

петли при витальной микроскопии без нарушения микроциркуляции в ней и наблюдаемом брыжеечном сегменте.

Формула изобретения

Способ фиксации кишечной петли при витальной микроскопии, включающий ее выделение и обездвиживание, отличающийся тем, что, с целью предотвращения нарушения микроциркуляции в кишечной петле и близлежащих сегментах брыжейки, по свободному краю кишки наносят разрезы, в которые

вставляют пружинный каркас, проводят его через участок кишки, соответствующий наблюдаемому брыжеечному сегменту, и фиксируют его концы в зажимах.

Источники информации, принятые во внимание при экспертизе

1. Е.П.Смоличев, В.М.Володин

"Метод прижизненного изучения капиллярного кровообращения с фотоэлектрической регистрацией диаметра сосудов и определением скорости кровотока", Журнал "Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 1968, № 3, с. 74-75.

Союз Советских
Социалистических
Республик



Государственный комитет
СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е
ИЗОБРЕТЕНИЯ
К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(11) 738599

(61) Дополнительное к авт. свид-ву —

(22) Заявлено 01.09.76 (21) 2397942/28-13

с присоединением заявки № —

(53) Приоритет —

Опубликовано 05.06.80. Бюллетень № 21

Дата опубликования описания 08.06.80

(51) М. Кл.²

A 61 B 5/02

(53) УДК 615.475
(088.8)

(72) Авторы
изобретения

В. С. Котляров и И. В. Юрченко

(71) Заявитель

(54) СПОСОБ ИЗМЕРЕНИЯ КРОВЯНОГО ДАВЛЕНИЯ
В МИКРОСОСУДАХ

1

Изобретение относится к области экспериментальной медицины и может быть использовано для изучения терминального кровотока.

Известен способ измерения кровяного давления в микрососудах, заключающийся в фиксации ткани с сосудом под микроскопом, пережатии микрососуда и регистрации давления на сосуд в момент прекращения кровотока [1].

Однако при применении известного способа возможно повреждение микрососуда при пережатии.

Целью изобретения является уменьшение травматизации сосуда.

Эта цель достигается тем, что пережатие производят струей воды из канюли, которую устанавливают на расстоянии 1—5 мм от сосуда под углом 30—90° к сосуду. Кроме того, соотношение диаметров микрососуда и струи выбирают в интервале 1:1—1:5.

Способ осуществляют следующим образом.

Для измерения кровяного давления над микрососудом на расстоянии до 5 мм устанавливают канюлю с выходным отверстием соответствующего микрососуду диаметра.

2

При используемых диаметрах выходных отверстий (10—400 мкм) на больших расстояниях происходит уменьшение силы удара струи. Под напором в канюлю подают раствор Рингера и направляют вытекающую из нее струю под любым удобным к сосуду углом, регистрируя его величину в каждом конкретном случае. Повышают напор в канюле до тех пор, пока струя жидкости не пережмет наблюдаемый в микроскоп микрососуд. С помощью манометра регистрируют напор в канюле в момент пережатия микрососуда и по известной в гидродинамике формуле определяют давление струи на сосуд Р_н, которое и будет соответствовать давлению в микрососуде. Для непрямого определения кровяного давления в капиллярах струей жидкости пережимают микрососуд и в микроскоп наблюдают перемещение эритроцитов по обе стороны от места пережатия.

Пример. Для измерения кровяного давления в микрососудах брыжейки тонкой кишки крыс над микрососудом устанавливают канюлю конусоидальной формы, у которой внутренний диаметр выходного отверстия соизмерим с диаметром микрососуда. Так, для микрососудов диаметром до 20 мкм

используют канюлю с выходным отверстием 20 мкм, а для микрососудов диаметром 20—25 мкм — канюлю с диаметром выходного отверстия 30 мкм. Под напором в канюлю нагнетают раствор Рингера с температурой 37,5°C. Струю, вытекающую через выходное отверстие, направляют на микрососуд под углом 45° с расстояния до 5 мм.

Напор в канюле повышают до тех пор, пока струя жидкости не пережмет наблюдаемый в микроскоп сосуд. Регистрируют величину напора в канюле в момент прекращения кровотока, рассчитывают давление струи (а, следовательно, и давление в микрососуде) по известной формуле

$$P_H = \frac{F_H}{f} = \frac{\rho \cdot V^2 \sin \alpha \cdot f}{f} = \rho \cdot V^2 \cdot \sin \alpha$$

где P_H — давление струи, соответствующее давлению в микрососуде;

ρ — плотность раствора Рингера; F_H — сила давления струи по нормали к сосуду;

V — скорость истечения;

f — площадь поверхности сечения струи;

α — угол, под которым струя направлена к сосуду.

Скорость истечения определяют по формуле

$$V = \sqrt{\frac{P}{\varphi \cdot \gamma \cdot 2g}}$$

где φ — коэффициент скорости; γ — удельный вес раствора Рингера;

$\frac{P}{\gamma}$ — напор в канюле;

P — давление в канюле, регистрируемое манометром.

После подстановки получаем

$$P_H = \rho \cdot \varphi^2 \cdot \frac{P}{\gamma} \cdot 2g \cdot \sin \alpha \text{ или } P_H = 2 \varphi^2 \cdot P \cdot \sin \alpha$$

так как $\rho \cdot g = \gamma$.

Коэффициент скорости определяют по графику на основании расчета числа Рейнольдса Re

$$Re = \frac{\sqrt{2gH} \cdot d}{V}$$

где H — напор в канюле ($H = \frac{P}{\gamma}$);

d — диаметр выходного отверстия;

V — кинематический коэффициент вязкости.

Кинематический коэффициент вязкости определяют по формуле

$$V = \frac{0,00179}{(1 + 0,0368t + 0,00021t^2) \cdot \gamma}$$

где t — температура жидкости;

γ — удельный вес.

Измерения проводят в артериолах диаметром 20 мкм, капиллярах диаметром 12 мкм и венолах диаметром 25 мкм. В каждом сосуде давление измеряют десять раз, для одного и того же сосуда полученные величины практически не отличаются друг от друга. Для каждого из животных (всего использовано десять крыс) имелись незначительные отклонения в величине давления для сосудов одного типа и диаметра.

Среднее внутрисосудистое давление для перечисленных сосудов

37 ± 0,5,

20 ± 1,2 и

19 ± 0,7 мм рт. ст. соответственно.

Предлагаемый способ позволяет измерять кровяное давление без повреждения микрососуда и нарушения кровотока, динамику изменения давления в микрососуде благодаря возможности многократной регистрации давления в одном и том же микрососуде.

Формула изобретения

1. Способ измерения кровяного давления в микрососудах, заключающийся в фиксации ткани с сосудом под микроскопом, пережатии микрососуда и регистрации давления на сосуд в момент прекращения кровотока, отличающийся тем, что, с целью уменьшения травматизации сосуда, пережатие производят струей жидкости из канюли, которую устанавливают на расстоянии 1—5 мм от сосуда под углом 30—90° к сосуду.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что соотношение диаметров микрососуда и струи выбирают в интервале 1:1—1:5.

Источники информации,

принятые во внимание при экспертизе

1. Хугаева В. К., Александров П. Н. Непрямое измерение давления в капиллярах у белых крыс. Сб. «Микроциркуляция», Материалы I Всесоюзной конференции по микроциркуляции, М., 1977, с. 143.

Союз Советских
Социалистических
Республик



Государственный комитет
СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(11) 745498

(61) Дополнительное к авт. свид-ву —

(22) Заявлено 01.11.77 (21) 2546007/28-13

с присоединением заявки № —

(23) Приоритет —

Опубликовано 07.07.80. Бюллетень № 25

Дата опубликования описания 10.07.80

(51) М. Кл.²

А 61 В 1/06

(53) УДК 615.478.
.5(088.8)

(72) Автор
изобретения

В. С. Котляров

(71) Заявитель

Днепропетровский ордена Трудового Красного Знамени
медицинский институт

(54) УСТРОЙСТВО ДЛЯ ВИТАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ

1

Изобретение относится к области медицинской техники, а именно к устройствам для прижизненного микроскопирования и может быть использовано при изучении микроциркуляции, нервных структур и других образований в брыжейке кишки, саленнике и прочих внутренних органах животных.

Известен столик для витальной микроскопии брыжейки, состоящий из подставки для тела животного и камеры для кишечной петли. Камера для кишечной петли выполнена в виде ванночки с двойным дном, в центре которой проходит световод цилиндрической формы из оптического или органического стекла, причем верхняя отполированная поверхность световода служит предметным столиком, на котором располагают брыжейку. Подогрев камеры осуществляется путем пропускания через нее из ультратермостата воды, нагретой до 38° [1].

Существенным недостатком известного столика является возможность меха-

2

нического повреждения микроструктур за счет раздавливания о поверхность световода при манипуляциях (например, при непосредственном измерении кровяного давления в капиллярах) за счет прилипания брыжейки к полированной поверхности световода, что приводит к замедлению кровотока, стазу и диapedезу эритроцитов, а в случае использования полиэтиленовых колец, надеваемых на предметный столик — световод, за счет перегибания микрососудов у края кольца. К недостаткам относится также возможность термического повреждения микроструктур (кровеносных и лимфатических капилляров, клеток, нервных окончаний и т. п.) при использовании мощных источников света для микрокино- и фотосъемки.

Известно также устройство для прижизненного микроскопирования, содержащее термостатическую камеру, столик и ванночку для физиологического раствора. Для подведения проходящего света к изу-

чаемому в термостатических условиях внутреннему органу, извлеченному из брюшной полости животного, предметный столик в нем покрыт прозрачным стеклом, например, кварцевым, и выполнен в виде цилиндра, вмонтированного в дно ванночки и накрытого заполненной соевым раствором двухстенной термостатирующей камерой, в которой выбраны отверстия для ввода исследуемого внутреннего органа и объектива микроскопа [2].

Недостатком известного столика является возможность механического и термического повреждения микроструктур и невозможность в связи с этим длительной микроскопии.

Целью изобретения является предупреждение механического и термического повреждения органа.

Поставленная цель достигается тем, что устройство снабжено световодом и патрубками для подвода и отвода термостатирующей жидкости, рабочая поверхность термостатирующей камеры выполнена из эластичного материала и имеет форму усеченной полусферы при прохождении термостатирующей жидкости, а световод смонтирован внутри камеры с образованием канала между его верхним торцом и внутренней поверхностью полусферы.

На фиг. 1 изображено предложенное устройство для витальной микроскопии, общий вид; на фиг. 2 — то же, его боковая проекция.

Устройство для витальной микроскопии состоит из подставки для тела животного 1, на которой смонтирована ванночка 2 для физиологического раствора, в дно 3 которой встроены световод 4 из кварцевого стекла прямоугольной формы. К дну 3 ванночки 2 и к боковым граням световода 4 герметично прикреплены прозрачная эластичная камера 5 из полиэтилена или резины, выполненная в форме усеченной полусферы. На внутренней стороне камеры 5 зафиксирована круговая пружина 6, постоянно растягивающая верхнюю часть полусферы и создающая горизонтальную площадку 7 для расположения микроскопируемого участка внутреннего органа животного. В подставке 1 проходят патрубки 8 и 9 для подвода и отвода тепловой жидкости.

Для витальной микроскопии устройство монтируют на предметном столике микроскопа (на чертеже не показан). Через штуцер 8 под напором подают теплую воду (38°), например от системы бытового водопровода или от компрессора. При этом вода растягивает камеру 5, которая приобретает очертания усеченной полусферы за счет формы самой камеры 5 и действия пружины 6. Выступающий внутри полусферы световод 4 обеспечивает циркуляцию жидкости по внутренней поверхности камеры 5, что обеспечивает равномерный обогрев полусферы и дна 3 ванночки 2, а также создает постоянный ток жидкости между верхней гранью 10 световода 4 и горизонтальной площадкой 7.

Работа устройства осуществляется следующим образом. На подставке 1 помещают находящееся под наркозом животное. Через разрез в передней брюшной стенке выводят исследуемый внутренний орган (например, брыжейку тонкой кишки или сальник), который располагают на площадке 7 полусферы в ванночке 2, заполненной физиологическим раствором. Для предупреждения высыхания внутренний орган дополнительно орошают подогретым физиологическим раствором или смазывают вазелиновым маслом.

В данной конструкции жидкость выполняет роль упругой опоры, подогревают исследуемый орган дополнительно служит жидким световодом, подводящим свет к площадке 7, а также поглощает и отводит тепло от источника света (на чертеже не показан).

Благодаря материалу и эластичности камеры 5, форме усеченной полусферы и упругости, создаваемой циркулирующей жидкостью, практически полностью исключается возможность механического повреждения исследуемого органа за счет раздавливания, прилипания к поверхности камеры или перегибания у ее края. Термическое повреждение исключается за счет поглощения и отвода тепла от источника света жидкостью, циркулирующей между верхней гранью световода и поверхностью усеченной полусферы.

Таким образом, предлагаемый столик для витальной микроскопии позволяет исключить возможность механического и термического повреждения исследуемого внутреннего органа и создать оптимальные условия для длительной витальной микроскопии.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Устройство для витальной микроскопии, содержащее термостатическую камеру, ванночку для физиологического раствора, площадку для размещения микрооцениваемого органа, отличающееся тем, что, с целью предупреждения механического и термического повреждения органа, оно снабжено световодом и патрубками для подвода и отвода термостатирующей жидкости, рабочая поверхность термостатирующей камеры выполнена из эластичного материала и имеет форму усеченной полусферы при прохождении термостатирующей жидкости, а световод

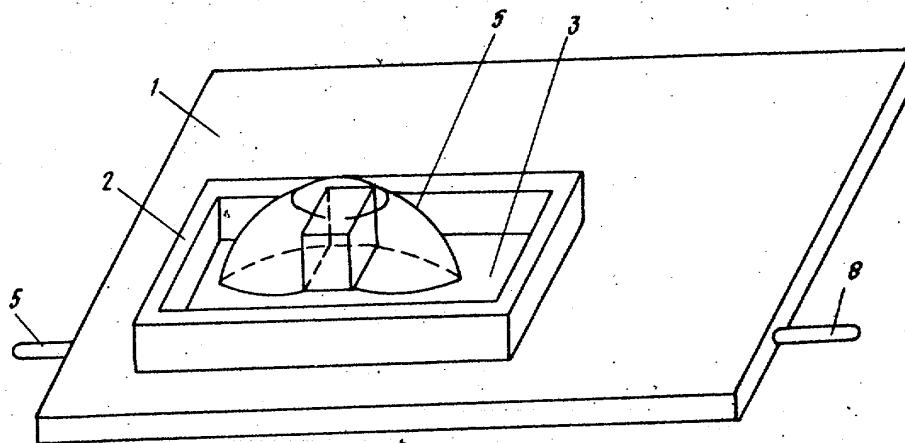
смонтирован внутри камеры с образованием канала между его верхним торцом и внутренней поверхностью полусферы.

Источники информации,

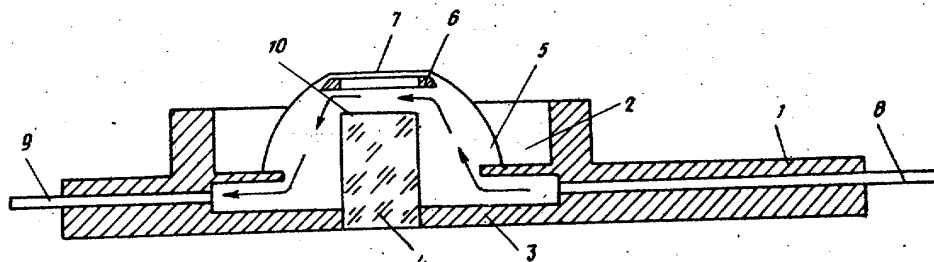
принятые во внимание при экспертизе

1. Смоличев Е. П. и др. Метод прижизненного изучения капиллярного кровообращения с фотоэлектрической регистрацией диаметра сосудов и определением скорости кровотока. ж. Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 1968, № 3, с. 72-74.

2. Авторское свидетельство СССР № 281743, кл. А 61 В 1/06, 1969 (прототип).



Фиг. 1



Фиг. 2

Союз Советских
Социалистических
Республик



Государственный комитет
СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(11) 810221

- (61) Дополнительное к авт. свид-ву —
(22) Заявлено 19.12.78 (21) 2698484/28-13
с присоединением заявки № —
(23) Приоритет —
(43) Опубликовано 07.03.81. Бюллетень № 9
(45) Дата опубликования описания 07.03.81

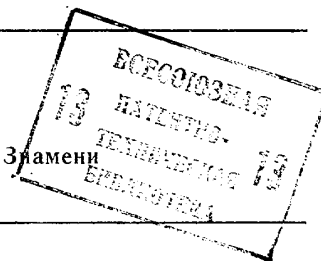
(51) М. Кл.³
А 61 В 10/00

(53) УДК 615.471
(088.8)

(72) Автор
изобретения

В. С. Котляров

(71) Заявитель Днепропетровский ордена Трудового Красного Знамени
медицинский институт



(54) УСТРОЙСТВО ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ КОЛЕБАНИЙ НА БИОЛОГИЧЕСКИЙ ОБЪЕКТ

1

Изобретение относится к медицине и может быть использовано для исследования действия ультразвука на биологические объекты.

Известно устройство для исследования действия ультразвуковых колебаний на биологические объекты, содержащее кювету, источник ультразвуковых колебаний, рефлектор и средство для размещения биологического объекта [1].

Однако известное устройство не обеспечивает возможности непосредственного наблюдения за биологическим объектом в процессе воздействия ультразвуковых колебаний.

Целью изобретения является непосредственное наблюдение биологического объекта в процессе воздействия ультразвуковых колебаний.

Поставленная цель достигается тем, что в устройство введен источник света, а рефлектор выполнен в виде светоотражающего зеркала, покрытого эластичной светопроводящей мембраной, отделенной от поверхности зеркала слоем воздуха, причем рефлектор и источник света размещены подвижно на двух параллельных одна другой осях и соединены между собой средством синхронного вращения, выполненного в виде ременной передачи. Наряду с этим

2

внутренняя поверхность кюветы покрыта слоем материала, поглощающего ультразвуковые колебания.

На фиг. 1 изображено предлагаемое устройство, общий вид; на фиг. 2 и 3 — то же, разрез.

Устройство для исследования действия ультразвука на биологический объект содержит кювету 1, рефлектор 2, подвижно укрепленный вокруг горизонтальной оси 3, источник 4 света, подвижно укрепленный вокруг оси 5, параллельной оси 3, источник 6 ультразвуковых колебаний и средство для размещения биологического объекта, например предметный столик 7. Внутренняя поверхность кюветы 1 покрыта слоем 8 материала, поглощающего ультразвуковые колебания. Рефлектор 2 выполнен в виде светоотражающего зеркала 9, покрытого эластичной светопроводящей мембраной 10, отделенной от поверхности зеркала слоем 11 воздуха.

Источник 4 света помещен в герметичный корпус 12, расположенный ниже уровня поверхности 13 слоя 14 жидкости для исключения явлений преломления и отражения светового луча на границе воздух — жидкость.

Рефлектор 2 снабжен поворотной ручкой 15, на которой укреплен шкив 16. На

стенке кюветы 1 установлена шкала 17, показывающая положение ручки 15. Корпус 12 источника 4 света также снабжен шкивом 18, расположенным снаружи кюветы 1. Шкивы 16 и 18 соединены ремнем 19. Соотношение диаметров шкивов 16 и 18 определяется расчетным путем в зависимости от конкретных размеров кюветы, расстояния между источником 4 света и рефлектором 2 и толщины слоя 11 воздуха между зеркалом 9 и мембраной 10 в рефлекторе 2.

Для исследования биологического действия ультразвука на предметном столике 7 укрепляют исследуемый объект, например брыжейку тонкой кишки или сальник лабораторных животных, отпрепарированный лоскут кожи, биологическую камеру с микроорганизмами и т. д. Включают источник 4 света и источник 6 ультразвуковых колебаний. Пучок 20 ультразвука, отражаясь от зеркала и от слоя 11 воздуха, ограниченного мембраной 10, направляется на предметный столик 7. Луч 21 света, отражаясь от зеркала 9, проецируется в ту же точку на предметном столике 7 (фиг. 2). Через объектив 22 микроскопа наблюдают изменения, возникающие при непосредственном действии ультразвука на биологический объект, расположенный на предметном столике 7, причем, тот факт, что проекция светового луча 21 на предметный столик 7 соответствует проекции ультразвукового пучка 20 на это же место, значительно облегчает определение участка, подвергнувшегося действию ультразвука.

Для исследования действия ультразвука на соседние участки объекта ручкой 15 поворачивают рефлектор 2, при этом синхронно поворачивается на заданное количество градусов и источник 4 света и опять проекция ультразвукового пучка 20 и светового луча 21 на предметный столик 7 совпадают. В случае отражения ультразвукового пучка 20 от поверхности 13 слоя 14 жидкости или от объектива 22 микроскопа ультразвуковой пучок 20 поглощается слоем 8 материала, что исключает образование и наложение добавочных ультразвуковых волн и тем самым обеспе-

чивает однородность ультразвукового поля в кювете и исследуемом объекте.

Шкала 17 позволяет при исследовании различных объектов или при повторных воздействиях направлять ультразвуковой пучок 20 и световой луч 21 в одно и то же место предметного столика 7 для получения сравнимых результатов и количественной оценки данных за счет четкого представления характера и интенсивности ультразвукового поля при различных положениях рефлектора 2.

Таким образом, данное устройство позволяет обеспечить непосредственное наблюдение исследуемого биологического объекта, в процессе воздействия ультразвуковых колебаний.

Формула изобретения

1. Устройство для исследования действия ультразвуковых колебаний на биологический объект, содержащее кювету, источник ультразвуковых колебаний, рефлектор и средство для размещения биологического объекта, отличающееся тем, что, с целью непосредственного наблюдения биологического объекта в процессе воздействия ультразвуковых колебаний, в него введен источник света, а рефлектор выполнен в виде светоотражающего зеркала, покрытого эластичной светопроводящей мембраной, отделенной от поверхности зеркала слоем воздуха, причем рефлектор и источник света размещены подвижно на двух параллельных одна другой осях и соединены между собой средством синхронного вращения.

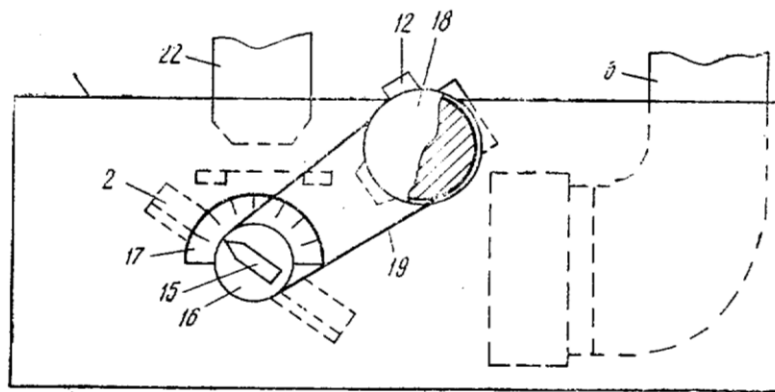
2. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что внутренняя поверхность кюветы покрыта слоем материала, поглощающего ультразвуковые колебания.

3. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что средство синхронного вращения выполнено в виде ременной передачи.

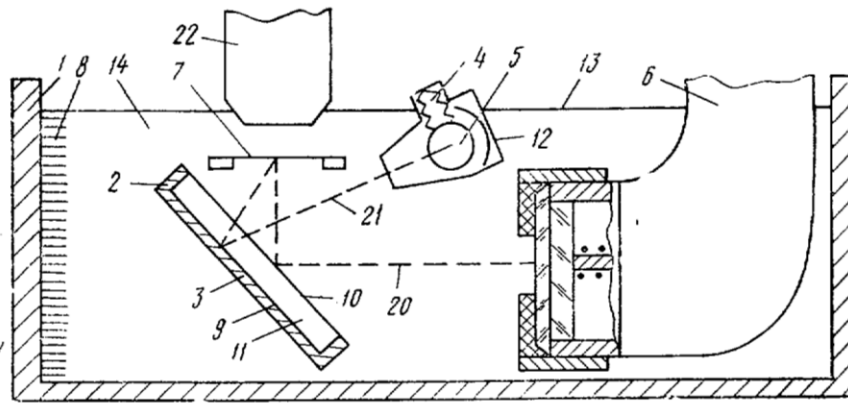
Источники информации, принятые во внимание при экспертизе

1. Заявка ФРГ № 2529195, кл. А 61 В 10/00, опублик. 1977 (прототип).

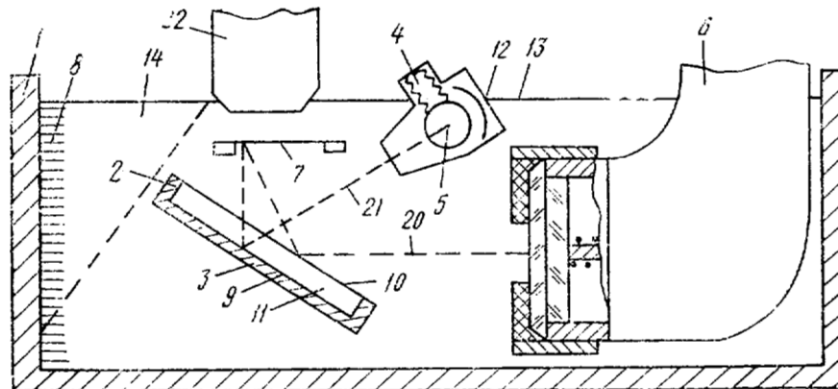
810221



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



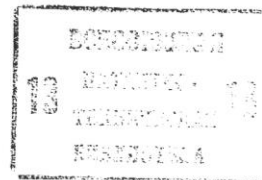
СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1010559** **A**

3(5D) G 01 N 33/48

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



(21) 2475118/28-13
(22) 28.03.77
(46) 07.04.83, Бюл. № 13
(72) В.Ф. Ушаков
(71) Днепропетровский ордена Трудового
Красного Знамени медицинский
институт
(53) 616.36(088.8)
(56) 1. Черненко Ю.П. Ультраструкту-
ры контактов гепатоцитов. Автореф.
канд. дис. Днепропетровск, 1975,
с. 5-6 (прототип).

(54)(57) СПОСОБ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА КОН-
ТАКТЫ ГЕПАТОЦИТОВ путем введения
в портальную вену жидкости, о т л и-
ч а ю щ и й с я тем, что, с целью
более полного выявления ультраструк-
туры контактов гепатоцитов, перед
подачей жидкости пережимают нижнюю
полую вену, подают изотоническую
жидкость, а давление создают выше
физиологического.



(19) **SU** (11) **1010559** **A**

Изобретение относится к биологии и может быть использовано при изучении ультраструктуры контактов гепатоцитов.

Известен способ воздействия на контакты гепатоцитов путем введения в портальную вену жидкости [1].

Однако, известный способ не позволяет достаточно полно выявить ультраструктуру гепатоцитов.

Цель изобретения - полное выявление ультраструктуры контактов гепатоцитов.

Поставленная цель достигается тем, что в известном способе, включающем введение в портальную вену жидкости, перед подачей жидкости пережимают нижнюю полую вену, подают изотоническую жидкость, а давление создают выше физиологического.

Способ осуществляется следующим образом.

Через портальную вену в кровеносное русло печени нагнетают изотоническую жидкость при блокированном оттоке. Отток блокируют наложением лигатур на нижнюю полую вену (выше и ниже печеночной вены). Давление выбирают на 10-70 мм рт. ст. выше физиологического. Через 1-5 мин пос-

ле начала нагнетания меняют изотоническую жидкость на фиксатор (например, глютировый альдегид) при неизменном давлении в кровеносном русле печени. Фиксацию под давлением осуществляют в течение двух-трех минут. Затем вырезают кусочки ткани размером порядка 1 мм³ и в дальнейшем готовят общепринятым способом образцы для просмотра в просвечивающем электронном микроскопе. Свойства отдельных ультраструктурных элементов контактов гепатоцитов оценивают по величине угла, образованного поверхностями мембранами соседних клеток в непосредственной близости от выбранного элемента контакта.

Предлагаемый способ позволяет деформировать контакты гепатоцитов и дать их прочностные характеристики. В отличие от известного способа воздействия на контакт гепатоцитов гидродинамической струей предлагаемый способ не разрушает сами гепатоциты. По сравнению со способом, включающим перфузию печени, предлагаемый способ позволяет обнаружить все известные типы контактов гепатоцитов.



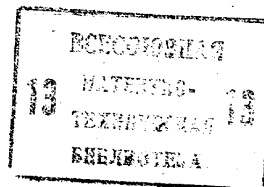
СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1017289** **A**

3(5D) A 61 B 5/00

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

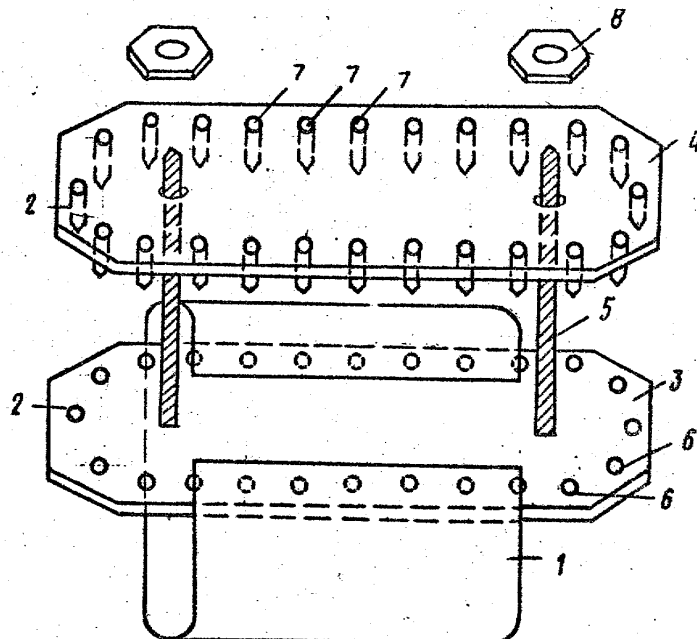


(21) 3316314/28-13
(22) 13.07.81
(46) 15.05.83. Бюл. № 18
(72) В. С. Котляров
(71) Днепропетровский ордена Трудового Красного Знамени медицинский институт

(53) 576.8(088.8)
(56) 1. Барковский В. С. Техника вживления прозрачной камеры в кожную складку спины у мыши. - "Архив анатомии, гистологии и эмбриологии", 1975, № 2, с. 103-106.

2. Авторское свидетельство СССР № 564857, кл. А 61 В 5/00, 1977 (прототип).

(54) (57) КАМЕРА ДЛЯ ВИТАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ, содержащая две прозрачные пластины, установленные с возможностью перемещения в вертикальной плоскости одна относительно другой и снабженные фиксатором их взаимного положения; о т л и ч а ю щ а я с я тем, что, с целью расширения функциональных возможностей камеры за счет исследования микроциркуляции в мышцах, камера дополнительно снабжена эластичной мембраной, выполненной из светоотражающего материала, при этом ее края размещены между пластинами.



(19) **SU** (11) **1017289** **A**

Изобретение относится к медицинской технике, в частности к камерам для витальной микроскопии.

Известны прозрачные камеры для вживления в ухо кролика и защечный мешочек хомячка, а также в кожную складку лабораторных животных (мышей, крыс и т.п.), состоящие из двух прозрачных пластин-иллюминаторов, скрепляемых между собой болтами и одновременно прикрепляемых к тканям [1].

Недостатком этой камеры является то, что она не позволяет исследовать микроциркуляцию в мышцах.

Известна камера для витальной микроскопии, содержащая две прозрачные пластины, установленные с возможностью перемещения в вертикальной плоскости относительно друг друга и снабженные фиксатором их взаимного положения [2].

Однако данной камере присущи низкие функциональные возможности камеры из-за невозможности исследования микроциркуляции в мышцах.

Цель изобретения - расширение функциональных возможностей камеры за счет исследования микроциркуляции в мышцах.

Указанная цель достигается тем, что камера для витальной микроскопии, содержащая две прозрачные пластины, установленные с возможностью перемещения в вертикальной плоскости, относительно друг друга и снабженные фиксатором их взаимного положения, дополнительно снабжена эластичной мембраной, выполненной из светоотражающего материала, при этом ее края размещены между пластинами для штифтов, укрепленных на другой пластине.

На фиг. 1 изображена камера, общий вид; на фиг. 2 - схема вживления в мышцу.

Камера для витальной микроскопии состоит из мембраны 1, выполненной из эластичного светоотражающего материала, и прозрачного иллюминатора 2, состоящего из двух пластин 3 и 4. На пластине 3 установлены фиксирующие винты 5, по краям ее выполнены отверстия 6. На пластине 4 укреплены штифты 7, расположенные по краям пластины 4 соответственно расположению отверстий 6 на пластине 3. Обе пластины 3 и 4 фиксируются затяжными гайками 8.

Камера работает следующим образом.

Через разрез кожи и подкожной клетчатки выделяют мышцу экспериментального животного (например, одну из мышц спины или бедра). Скальпелем надсекают поверхностный слой мышцы параллельно фасции. В полученный разрез вводят мембрану 1 (фиг. 2). Затем на поверхность мышцы 9 помещают пластину 3 иллюминатора 2. Края мембраны 1 вагиблют на пластину 3 иллюминатора 2. Затем на винты 5 одевают пластину 4 иллюминатора 2. При этом штифты 7 располагаются непосредственно над отверстиями 6. Пинцетом в пространство между пластинами 3 и 4 иллюминатора 2 вводят кожу с подкожной клетчаткой 10, ограничивающую края кожной раны в области разреза. Затягивают гайки 8. При этом штифты 7 входят в отверстия 6 и обеспечивают надежную фиксацию краев мембраны 1 и кожи 10 в месте вживления камеры, кроме того, при этом обеспечивается необходимая герметичность операционной раны.

Через 2-3 недели после стихания воспалительного процесса, вызванного операцией вживления камеры, можно приступить к биомикроскопии микроциркулярного русла мышцы в отраженном свете с помощью осветителя 11 и микроскопа 12. Луч света 13, отражаясь от светоотражающей мембраны 1, обеспечивает высокоэффективное изображение микроциркуляторного русла. За счет эластичной мембраны 1 можно наблюдать изменения микроциркуляции в различные фазы работы мышцы 9, так как ее сокращение приводит к соответствующему растяжению мембраны 1 и исследуемый участок мышцы 9 не ущемляется между мембраной 1 и иллюминатором 2. В случае исследования микроциркуляции в динамике, фиксирующие винты 5 могут быть использованы в качестве электродов для записи миограмм или нанесения раздражения электрическим током для обеспечения сокращения мышцы 9 в процессе эксперимента.

Таким образом, предлагаемая конструкция камеры для витальной микроскопии позволяет обеспечить исследования микроциркуляции в мышцах.

Панчоха Василь Павлович

Ортопед-стоматолог, доктор медичних наук, професор, 1920 року народження. Закінчив (1950) Київський медичний стоматологічний інститут. З 1953 до 1965 р. працював на посаді наукового, потім старшого наукового співробітника науково-протезного відділу Одеського науково-дослідного інституту стоматології. У 1961 р. захистив кандидатську дисертацію "Лікування переломів нижньої щелепи за допомогою позаротового апарату конструкції автора", а у 1972 р. - докторську "Клініко-експериментальна та лабораторна розробка актуальних проблем бюгельного протезування".

У 1965 р. організував кафедру ортопедичної стоматології ДМІ і завідував нею до 1992 р., а з 1992 р. - професор кафедри. З 1982 до 1993 р. – науковий консультант групи з розробки зубопротезних матеріалів ЦНДЛ.

Науковий напрямок - підвищення якості зубного протезування. Ним запропонований позаротовий апарат для закріплення відламків при переломах нижньої щелепи (а. с. N 104625), розроблена методика його застосування при переломах нижньої щелепи, обох щелеп, кісток носа та кісток вилиці. Розроблена технологія високоточної відливки каркасів бюгельних протезів з кобальто-хромового сплаву на вогнетривких моделях, методика протезування, особливо методика планування конструкції протезу. Запропоновані такі матеріали, як вогнетривка формована маса для моделей (а.с. N 214736) та відбиткова маса для дублювання моделей (а.с. N 207336).

На основі розробленої технології відливки цільнолитих каркасів бюгельних протезів була розроблена методика шинування рухомих зубів цільнолитими знімними шинами при пародонтиті. Це дозволило добре фіксувати зуби, зменшити травмуючий фактор і суттєво позитивно вплинути на лікування хворих. На основі електровакуумної технології розроблена технологія покриття зубних протезів з неблагородних сплавів нітридом титану. Висока стійкість, мала електроактивність, інертність та золотистий колір дозволили застосувати його на практиці не тільки як замінювач дорогого золота, а й для профілактики гальванозів.

Автор 152 наукових праць, у тому числі 7 монографій, понад 20 методичних вказівок. Отримано 26 авторських свідоцтв на винаходи, світова новизна яких підтверджена 8 патентами висо-корозвинених країн. Наукові роботи виставлялися на ВДНГ СРСР та України і були нагороджені золотою та бронзовою медалями.



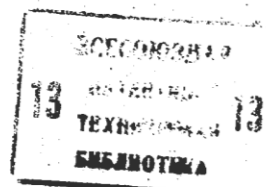
СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(SU) 1134190 A

4(51) A 61 C 5/08

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

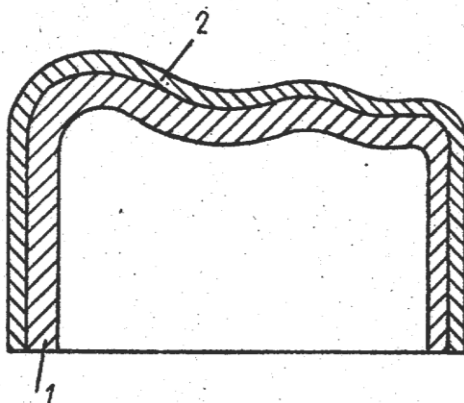
ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



(21) 2835696/28-13
(22) 05.11.79
(46) 15.01.85. Бюл. № 2
(72) Ю.А. Тарасов, Л.В. Живкова,
А.М. Котляр и В.П. Панчоха
(53) 615.475(088.8)
(56) 1. Авторское свидетельство СССР
№ 212442, кл. А 61 С 5/08, 1967.

(54)(57) ЗУБНОЙ ПРОТЕЗ, состоящий
из основы и декоративного наружно-
го слоя, отличающийся

тем, что, с целью повышения долго-
вечности зубных протезов и обеспе-
чения косметического эффекта, прису-
щего драгметаллам (золоту или пла-
тине), наружный слой выполнен из
более твердого материала, чем осно-
ва, — металлоподобного соединения
металлов 4 группы периодической сис-
темы элементов, имеющего цвет драг-
металла, причем отношение толщины
наружного слоя к толщине основы
составляет от 1:10 до 1:200.



(SU) 1134190 A

Изобретение относится к медицине, а именно к зубопротезированию, и может быть использовано для восстановления дефектов коронки зуба и зубных рядов.

Известен зубной протез, у которого декоративный наружный слой состоит из сплава, содержащего золото, а основа - из сплава, обладающего более высокой, по сравнению с наружным слоем твердостью и не содержащего золота [1].

Однако, поскольку наружный слой известного протеза подвержен интенсивному истиранию, он довольно быстро изнашивается. При этом часто наблюдается его отслаивание от основы. Таким образом, протез известной конструкции, оставаясь еще прочным, требует замены из-за потери своего косметического эффекта.

Целью изобретения является повышение долговечности зубных протезов и обеспечение косметического эффекта, присущего драгметаллам (золоту или платине).

Указанная цель достигается тем, что в зубном протезе, состоящем из основы и декоративного наружного слоя, наружный слой выполнен из более твердого материала, чем основа, - металлоподобного соединения металлов 4 группы периодической системы элементов, имеющего цвет драгметалла, причем отношение толщины наружного слоя к толщине основы составляет от 1:10 до 1:200.

На чертеже изображен зубной протез, сечение.

Зубной протез содержит основу 1 и наружный декоративный слой 2. Основа 1, выполненная из высокопрочных коррозионно-стойких материалов, например, из нержавеющей хромоникелевой стали или сплава кобальта и хрома, обеспечивает высокую прочность конструкции при знакопеременных нагрузках, имеющих место при жевании, и химическую стойкость в средах полости рта. Наружный слой 2, выполненный из металлоподобного соединения металлов 4 группы периодической системы элементов, например, нитридов циркония или титана, обеспечивает декоративно-косметическую функцию и воспринимает истирающее воздействие.

Так как различные металлоподобные соединения 4 группы периодической системы элементов, в частности нитриды титана и циркония, имеют широкую гамму золотисто-желтых, золотисто-красных и серебристых цветов, то, будучи нанесены на металлические изделия, придают им вид выполненных из драгметалла. Так, нитрид циркония в зависимости от содержания в нем азота имеет цвет от серебристого до темно-золотистого, т.е. имитирует платину или золото. Нитрид же титана может иметь цвет от золотисто-желтого до золотистого с красным оттенком и имитирует золото различных проб.

Кроме того, металлоподобные соединения 4 группы периодической системы элементов, из которых выполнен наружный слой протезов, характеризуются высокой химической стойкостью в кислых средах, нетоксичностью и хорошей переносимостью тканями организма. Поэтому описываемые зубные протезы биологически индифферентны и стойки в средах полости рта.

Твердость материалов, из которых выполнен наружный слой протезов, не ниже 2500 кгс/мм², что значительно выше твердости известных металлических материалов, применяемых в стоматологии. Поэтому наружный слой этого протеза отличается очень высокой износостойкостью и позволяет конструкций успешно противостоять истиранию.

Повышенная хрупкость используемых для наружного слоя материалов накладывает граничные условия на соотношение толщины основы и наружного слоя. Чем тоньше будет наружный декоративный слой, тем меньше плотность дефектов его структуры и, естественно, выше его пластичность. Однако, чрезмерное утоньшение этого слоя вызывает недолговечность зубного протеза из-за быстрого его истирания. Экспериментально установлено, что отношение толщины наружного слоя к толщине основы должно составлять (1:10) - 1:200. В случае мостовидных протезов расчет толщины декоративного слоя надо вести по самому тонкому сечению конструкции протеза.

Высокая адгезия металлоподобных соединений 4 группы периодической системы элемента (для нитридов цир-

кония и титана, например, достигает 2900 кгс/см², в то время как для золота по серебрянно-палладиевому сплаву или нержавеющей стали не превышает 700 кгс/см² /к нержавеющей сталям и сплавам исключает отслаивание наружного слоя от основы, обеспечивая долговременный косметический эффект и изностостойкость протезов).

Изготовление зубных протезов осуществляют следующим образом.

Вначале по общепринятой методике изготавливается основа 1 зубных протезов из высокопрочной нержавеющей стали или сплавов кобальта и хрома в виде изделий нужной формы, а также проверяется точность посадки во рту пациента. После примерки, припасовки и полировки заготовка тщательно обезжиривается в 96%-ном этиловом спирте, и одним из известных методов вакуумной технологии, например термической диссоциации иодида металла, на поверхность основы наносят материал наружного слоя 2 требуемой толщины, имеющий цвет имитирующего драгметалла. После нанесения наружного слоя 2 поверхность зубных протезов подвергается окончательной полировке, а затем, если это необходимо, на протезах формируются недостающие элементы из пластмассы.

Клиническим испытаниям были подвергнуты зубные коронки и мостовидные протезы, основа которых была выполнена из хромоникелевой нержавеющей стали, а наружный слой — из нитрида титана и нитрида циркония. За период многолетних (более 4 лет) наблюдений за группой больных в количестве 30 человек жалоб со стороны последних отмечено не было. Изменений тканей десен и полости рта не наблюдалось. Цвет коронки и протезов у наблюдаемых больных не изменялся и хорошо имитировал цвет золота различных проб. Повреждений протезов (истирание наружного слоя, сколы и трещины по наружному слою, коррозионные поражения) не наблюдалось.

По косметическому эффекту, биологической индифферентности и химической стойкости предлагаемая конструкция зубного протеза не уступает протезам, выполненным из сплава золота или платины, а по прочности и изностостойкости превосходит последние.

Таким образом, обладая длительной стойкостью, высоким косметическим эффектом и невысокой стоимостью (примерно в 5 раз дешевле известного протеза), предлагаемый зубной протез может обеспечить полноценную замену драгметаллов в зубопротезировании.



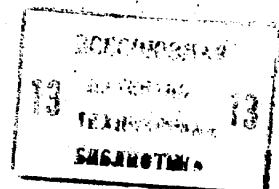
СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1134191** **A**

4(51) А 61 С 13/00

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ И АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



(21) 2911235/28-13; 2911234/28-13

(22) 17.04.80

(46) 15.01.84. Бюл. № 2

(72) А.М. Котляр, Ю.А. Тарасов,
Л.В. Живкова, В.П. Панчоха

и Н.В. Алексеенко

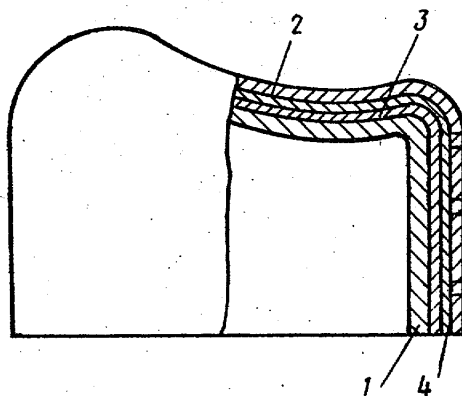
(53) 615.465(088.8)

(56) 1. Авторское свидетельство СССР
№ 212442, кл. А 61 С 13/00, 1964.

(54)(57) 1. ЗУБНОЙ ПРОТЕЗ, содержащий
металлическую основу из прочного
коррозионно-стойкого материала и де-
коративный слой цвета золота различ-
ных проб, отличающийся тем, что, с целью повышения коррози-

онной стойкости протеза, основа про-
теза и декоративный слой разделены
слоем более электроотрицательного,
чем материал декоративного слоя, ме-
талла.

2. Зубной протез по п. 1, отличающийся тем, что, с целью
придания протезу антисептических
свойств, основа протеза и декоратив-
ный слой разделены слоем благородно-
го металла, обладающего бактерицид-
ными свойствами, причем декоративный
слой выполнен проницаемым для жид-
кой среды рта, а прозрачность его
не превышает 1-15%



(19) **SU** (11) **1134191** **A**

Изобретение относится к медицине, а именно к зубопротезированию для восстановления дефектов зуба и зубных рядов.

Известен зубной протез, содержащий металлическую основу из прочного коррозионно-стойкого материала и декоративный слой цвета золота различных проб [1].

Однако в известном зубном протезе наружный декоративный слой выполнен из более электроположительного (например золото, нитрид циркония, нитрид титана), чем основа (например нержавеющие стали, сплав кобальта и хрома) материала, и при незначительном нарушении сплошности декоративного слоя (наличие микропор или микротрещин, местное истирание), не ухудшающей декоративно-косметических свойств протезов, за счет заполнения этих дефектов протеза жидкостью полости рта образуются местные гальванические пары. Следствием функционирования таких гальванопар является появление и развитие очагов коррозии более электроотрицательного металла пары, т.е. основы протеза. Это приводит к местному разрушению основы протеза под покрытием и к потере, в конечном счете, его декоративно-косметических свойств. При этом известный зубной протез имеет высокую биологическую индифферентность и не препятствует развитию патогенной микрофлоры в полости рта, в т.ч. на ее слизистой, и протеканию различных воспалительных и других патологических процессов.

Цель изобретения - повышение коррозионной стойкости протеза, а также придание протезу антисептических свойств.

Цель достигается тем, что в зубном протезе, содержащем металлическую основу из прочного коррозионно-стойкого материала и декоративный слой цвета золота различных проб, основа протеза и декоративный слой разделены слоем более электроотрицательного чем материал декоративного слоя, металла.

При этом основа протеза и декоративный слой разделены слоем благородного металла, обладающего бактерицидными свойствами, причем декоративный слой выполнен проницаемым для

жидкой среды рта, а прозрачность его не превышает 1 - 15%.

На чертеже изображен зубной протез, общий вид.

Зубной протез содержит металлическую основу 1 из прочного коррозионно-стойкого материала и декоративный слой 2 цвета золота различных проб, при этом основа 1 протеза и декоративный слой 2 разделены слоем 3 более электроотрицательного металла, чем материал декоративного слоя, и слоем 4 благородного металла, обладающего бактерицидными свойствами, причем декоративный слой 2 выполнен проницаемым для жидкой среды рта, а прозрачность его не превышает 1 - 15%.

Зубной протез функционирует следующим образом.

Основа 1, выполненная из прочных коррозионно-стойких материалов, например из нержавеющей хромоникелевой стали или сплава кобальта и хрома, обеспечивает высокую прочность конструкции при знакопеременных нагрузках, имеющих место при жевании пищи, и химическую стойкость в средах полости рта. Декоративный слой 2 цвета золота различных проб, выполненный, например, из золота, нитрида циркония или нитрида титана, обеспечивает декоративно-косметическую функцию и воспринимает истирающее воздействие. Разделительный слой 4 из бактерицидных благородных металлов, например родия или серебра, посылает свои ионы в полость рта посредством обмена ионов с ее жидкой средой через проницаемый декоративный слой 2, обеспечивая антисептическую функцию протеза. Внутренний разделительный слой 3, выполненный из более электроотрицательного, чем материал декоративного слоя 2, металла, например из титана, алюминия, тантала или хрома, пассивируясь в средах полости рта, предохраняет основу 1 конструкции от коррозионного разрушения. Декоративный слой 2 по всей поверхности протеза или на отдельных его участках выполнен проницаемым (содержит сквозные микроотверстия, перфорации или сетку микротрещин) для жидкой среды полости рта. Диаметр микроотверстий, размеры перфораций или ширина микротрещин в декоративном слое 2 не

должна превышать 1-3 мкм. Такие размеры обеспечивают надежное (работает капиллярный эффект) проникновение в них только жидкой фазы, затрудняя попадание твердой фазы (пищи), и лежат ниже разрешающей способности человеческого глаза, делая микроотверстия, перфорации или микротрещины визуально неразличимыми. Прозрачность декоративного слоя 2 протеза составляет 1 - 15%.

Указанный диапазон изменения прозрачности обеспечивает достаточно широкий интервал регулирования степени антисептичности в зависимости от индивидуальных способностей больного и решаемых задач. При прозрачности декоративного слоя менее 1% антисептические свойства протеза становятся исчезающе малыми, а при прозрачности более 15% отмечается ухудшение декоративно-косметического эффекта протеза. При нахождении протеза в полости рта происходит заполнение микроотверстий, перфораций или микротрещин, имеющих в декоративном слое 2, жидкой средой полости рта. Поскольку декоративный слой 2 протеза выполнен из более электроположительного материала (золото, нитриды циркония или титана), чем металл (родий, серебро) разделительного слоя 4, то после заполнения микроотверстий декоративного слоя 2 жидкостью (своего рода электролит) полости рта, в каждом таком микроотверстии образуется короткозамкнутый микрогальванический элемент. Роль анода в таком элементе будет выполнять более электроотри-

цательный из двух контактирующих металлов, т.е. им будет металл разделительного слоя 4. Благодаря этому ионы бактерицидного серебра или родия постоянно переходят в жидкую среду микрогальванических элементов. Обогащение последней ионами серебра или родия вызывает их диффузию в направлении убывания градиента концентрации, в результате чего ионы бактерицидного металла попадают в полость рта и оказывают антисептическое воздействие на ее микрофлору.

Предлагаемые зубные протезы изготовлены в количестве 30 в виде коронок и 10 - в виде мостовидных протезов и установлены больным. Основа протезов выполнена из хромоникелевой нержавеющей стали, бактерицидный слой 4 - родий толщиной 0,3-0,4 мкм, разделительный пассивирующийся слой 3 - титан толщиной 5-10 мкм и декоративный слой из нитрида титана толщиной 5-10 мкм. Прозрачность декоративного слоя составляет 5 - 15%. Срок наблюдений - 12 мес. Жалоб со стороны больных отмечено не было. Изменений тканей десен и полости рта не наблюдалось.

Таким образом, установлено, что предлагаемый зубной протез имеет высокую коррозионную стойкость, обладает антисептическими свойствами и по декоративно-косметическому эффекту не уступает протезам из сплавов на основе драгметаллов, а по прочности, износостойкости и долговечности превосходит последние.

Малевич Олег Євгенович

Хірург-стоматолог, доктор медичних наук, професор, 1937 року народження. Закінчив (у 1960 р.) лікувальний факультет Дніпропетровського медінституту і до 1966 р. працював ординатором щелепно-лицьового стаціонару обласної лікарні ім. І.І. Мечникова у м. Дніпропетровську. У 1966 р. його обирають асистентом кафедри госпітальної хірургії, де він очолював курс стоматології.

У 1964 р. Олег Євгенович захистив кандидатську дисертацію "Застосування кісткового шва пластмасовою ниткою при переломах нижньої щелепи", а у 1970 р. - докторську дисертацію "Функціональні зсуви в організмі хворих при щілинах обличчя і їх роль у процесі хірургічного лікування".

З 1973 р. - завідувач кафедри хірургічної стоматології ДМІ. Наукові його дослідження зосереджені у рамках однієї теми "Профілактика та лікування функціональних порушень у зв'язку з механічними та хірургічними пошкодженнями щелепно-лицьової ділянки".

З 1972 р. Олег Євгенович - член президії республіканської наукової спілки стоматологів, а з 1974 - член Правління Всесоюзної наукової спілки стоматологів, неодноразово брав участь у зарубіжних конгресах - у Польщі, Німеччині, Франції, Кубі, Швейцарії. У 1996 р. його обрано членом Європейської Асоціації черепно-щелепно-лицьових хірургів, у 1985 р. - Почесним членом Кубинської спілки щелепно-лицьових хірургів, у 1997 р. - Почесним членом Вірменської Асоціації щелепно-лицьових хірургів. У 1997 р. ім'я О.Є. Малевича занесено до Всесвітнього директорія пластичних хірургів. У 1998 році О.Є. Малевича обрано академіком Академії Наук Національного Прогресу України, він член редколегій 5 журналів та президії Асоціації стоматологів України.

Під його керівництвом виконані та захищені 3 докторські та 21 кандидатська дисертації, опубліковані 467 наукових робіт, отримано 28 авторських свідоцтв на винаходи, 7 патентів України та Росії.

Комський Марк Петрович

Член-кореспондент Української академії наук, завідувач міським хірургічним Центром патології голови й шиї Марк Петрович Комський народився 30 жовтня 1949 року в м. Дніпропетровську.

В 1968 році зробив у Дніпропетровський медичний інститут, який закінчив з відмінністю в 1973 р. З 1973 до 1975 р. працював військовим лікарем В 1975 р. прийнятий на роботу ординатором стаціонарного стоматологічного відділення міської клінічної лікарні №16, а потім № 11, де в 1982 році призначений завідувач відділення. В 1992 році відділення переводиться в клінічну лікарню № 4 і реорганізується в міський хірургічний Центр патології голови й шиї.

В 1993 році Марк Петрович захистив кандидатську дисертацію на тему: «Протизапальна терапія травматичного остеомієліту нижньої щелепи».

В 2011 році захистив докторську дисертацію на тему «Лімфотропна терапія в комплекснім лікуванні хворих остеомієлітом нижньої щелепи».

М.П.Комський нагороджений знаком «Винахідник СРСР», Міжнародним знаком «Людей року» і внесений у Міжнародний довідник Американського бібліографічного інституту.

Автор і співавтор 58 друкованих праць, 1 монографії, співавтор 6 навчальних посібників, 1 відкриття, 1 авторського посвідчення на винахід, 5 патентів на винахід та корисні моделі.



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1251364 A

(51) 4 A 61 B 17/00

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 2744488/28-14

(22) 26.03.79

(71) Днепропетровский ордена Трудо-
вого Красного Знамени медицинский
институт

(72) О.Е.Малевич, В.И.Панченко
и М.П.Комский

(53) 615.475 (088.8)

(56) Регионарная длительная внутри-
артериальная химиотерапия злокаче-
ственных опухолей. М.: 1970, с.17.

(54)(57) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТ-
ВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ
ОБЛАСТИ путем катетеризации сосуда
и введения лекарственных средств,
отличающийся тем, что,
с целью предупреждения расстройств
микроциркуляции и осложнения при
введении цитостатиков и сокращения
сроков лечения, после катетеризации
артериального сосуда и измерения ис-
ходного кровяного давления в регио-
нарной зоне цитостатик вводят в сосу-
дистое русло под давлением, превы-
шающим исходное на 5-15 мм рт.ст.

(19) SU (11) 1251364 A

Изобретение относится к медицине, в частности к способам лечения злокачественных опухолей челюстно-лицевой области.

Целью изобретения является предупреждение расстройств микроциркуляции и осложнения при введении цитостатиков и сокращение сроков лечения.

Способ лечения злокачественных опухолей челюстно-лицевой области осуществляют следующим образом. Перевязывают магистральные приносящие и отводящие кровеносные сосуды, кровоснабжающие опухоль челюстно-лицевой области, катетеризуют артериальный сосуд, измеряют исходное кровяное давление в созданной регионарной зоне, после чего проводят введение цитостатика в сосудистое русло под давлением, превышающим исходное кровяное давление в зоне на 5-15 мм рт.ст.

Пример. Под общим обезболиванием у больного выделяют наружную сонную артерию при операции по поводу рака верхней челюсти или язычную и подъязычную артерии при операциях по поводу рака языка или подъязычного пространства, лицевую артерию при операциях по поводу рака нижней губы.

Регистрируют давление в соответствующем сосуде, составляющем в среднем в наружной сонной артерии 140 ± 21 мм рт.ст. после создания регионарной зоны кровообращения в соответствующей области, в язычной артерии 70 ± 17 мм рт.ст., в подъязычной артерии 60 ± 14 мм рт.ст., в лицевой артерии 80 ± 11 мм рт.ст. Затем вводят цитостатик ежедневно в течение пяти дней (Тио-ТЭФ, разовая доза 5 мг, суммарная доза 25 мг; метотрексат, разовая доза 5 мг, суммарная доза 25 мг; 5-фторурацил, разовая доза 60 мг, суммарная доза 300 мг; эндоксан, разовая доза 50 мг, суммарная доза 250 мг).

Препараты вводят под давлением, превышающим исходное на 10 мм рт.ст. В среднем через наружную сонную артерию цитостатик вводят под давлением 150-20 мм рт.ст., в язычную артерию 80 ± 15 мм рт.ст., в подъязычную 70 ± 10 мм рт.ст., в лицевую артерию 90 ± 8 мм рт.ст.

В процессе инфузии постоянно контролируют и регистрируют давление

вводимого препарата, и по кривой, записанной на регистрирующем устройстве, определяют индукционное давление, поддерживая его на постоянном уровне.

Больной В., 43 года, с диагнозом рак боковой поверхности средней трети языка слева T₃ № 1 Мо. Под общим обезболиванием проводят двустороннюю перевязку наружных яремных вен, перевязку правой язычной артерии, через разрез стенки наружной сонной артерии в левую язычную артерию вводят силиконовый катетер и фиксируют лигатурами. Сонную артерию ниже введения катетера перевязывают. Раны на шее ушивают послойно, и конец катетера выводят наружу, накладывают асептическую повязку. Катетер соединяют с сосудом, и измеряют давление устройством для измерения и регистрации давления, которое составило 70 мм рт.ст. Затем под давлением 80 мм рт.ст. через катетер вводят цитостатики Тио-ТЭФ, разовая доза 5 мг, суммарная доза 25 мг; метотрексат, разовая доза 5 мг, суммарная доза 25 мг; фторурацил, разовая доза 60 мг, суммарная доза 300 мг; эндоксан, разовая доза 50 мг, суммарная доза 250 мг. Введение цитостатиков проводят ежедневно в течение 5 дней, после чего катетер извлекается.

Регионарная гемодинамика на протяжении курса лечения не нарушалась, что определялось сохранением артериального давления в пределах 70 мм рт.ст.

В результате лечения язва в области боковой поверхности языка уменьшилась в размерах, уменьшились боли в области язвы, которая очистилась от некротических масс, некротизации здоровых тканей, окружающих опухоль, не наблюдалось.

Данный способ лечения злокачественных опухолей челюстно-лицевой области использован при лечении 60 больных. У всех больных отсутствовал болевой синдром во время введения противоопухолевого препарата, явлений некроза не наблюдалось.

Способ позволяет снизить процент осложнений, связанных с повреждением системы сосудов и их тромбированием, и тем самым сократить срок пребывания

онкологического стоматологического больного в стационаре в среднем с 4-5 недель до 2-х недель, т.е. в

пределах срока времени, необходимого для проведения курса химиотерапии.



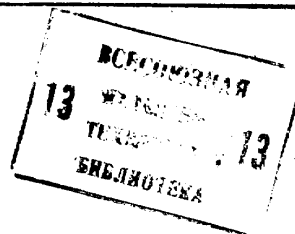
СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1314254** **A1**

(5D) 4 G 01 N 21/78

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



- (21) 3952378/28-04
(22) 14.06.85
(46) 30.05.87. Бюл. № 20
(71) Днепропетровский медицинский институт
(72) В.К.Бондарь и А.В.Федин
(53) 543.432(088,8)
(56) Беликов В.Г. Дифференциальная фотометрия. Науч. тр. Пятигорского фармац. ин-т. Ставрополь, 1970, с.81.
Шварц Е.М. Комплексные соединения бора с полиоксисоединениями. Рига: Зинатне, 1968, с.159.
Авторское свидетельство СССР № 979969, кл. G 01 N 21/78, 1981.
Коренман И.М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. М.: Химия, 1975, с.267.

- (54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИННОЙ КИСЛОТЫ В ОБРАЗЦАХ ТЕХНИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ
(57) Изобретение относится к аналитической химии, в частности к определе-

нию винной кислоты в образцах технических продуктов. Целью изобретения является повышение селективности определения. Способ осуществляют обработкой анализируемой пробы химическими реагентами. Согласно изобретению в качестве химических реагентов используют борную кислоту и *n*-бромфенилфлуорон. Обработку проводят в среде аммиачно-ацетатного буферного раствора с pH 6-8,8. Полученный окрашенный раствор фотометрируют. Способ позволяет определять винную кислоту в присутствии ароматических оксикарбоновых и алифатических кислот жирного ряда и их солей. Определению не мешают аминокислоты, сложные и простые эфиры органических кислот, моно- и полисахариды. Фотометрирование проводят при длине волны 540 нм. Концентрацию винной кислоты определяют с помощью калибровочного графика. Прочность прямого измерения 0,057-0,77, вероятная относительная погрешность 0,77-1,1%. 1 табл.

(19) **SU** (11) **1314254** **A1**

Изобретение относится к аналитической химии, а именно к способам качественного и количественного определения винной кислоты в образцах пищевых продуктов, и может быть использовано для анализа разрыхлителя для выпечки хлеба, в лекарственных препаратах, винных изделиях, в химических реагентах на основе фелинговой жидкости, во фракциях суммы органических кислот в подземных водах.

Целью изобретения является повышение селективности определения.

Способ осуществляют следующим образом.

Пример 1. Для количественного определения винной кислоты в присутствии больших количеств оксикарбоновых кислот в мерные колбы емкостью 50 мл последовательно помещают 20 мл аммиачно-ацетатного буферного раствора с pH 9,8, 0,5 мл 4%-ного раствора борной кислоты, 5-10 мл 0,3-0,5%-ного анализируемого раствора, 0,5-1 мл 0,005%-ного раствора п-бромфенилфлуорона и доводят объем до метки той же буферной смесью. Измерения оптической плотности растворов проводят относительно раствора, не содержащего анализируемой смеси, в кюветах с толщиной слоя жидкости 3-5 см.

Концентрацию винной кислоты определяют по калибровочной функции, построенной на основании измерений оптических плотностей стандартных растворов смесей органических кислот ($\lambda_{\text{эф.}} = 540 \text{ нм}$).

Предлагаемый способ опробован на модельных искусственных смесях оксикарбоновых кислот и биологически активных веществ.

Искусственная смесь содержит, вес. %:

Сульфосалициловая кислота	15
Цитрат натрия	10
Глюконат кальция	12
Глутаминовая кислота	16
Тимол	1
Бензоат натрия	5
Глицерин	5
Глюкоза	12
Молочный сахар	13
Танин	6
Аскорбиновая кислота	4
Витамин В ₆	1

Результаты определений:

Взято смеси, мг	95,0	90,0
Взято винной кислоты, мг	5,00	10,0
Получено (среднее из 10 определений), мг	5,01	9,96

Результаты анализа искусственных смесей приведены в таблице.

Статистические характеристики определений	Исследуемая смесь	
	I	II

Выборочная дисперсия	0,0062	0,0118
Выборочное стандартное отклонение	0,079	0,108
Коэффициент вариации, %	1,6	0,0109
Выборочная дисперсия среднего значения	0,00062	0,00109
Стандартное отклонение среднего результата	0,025	0,033
Точность прямого измерения	0,057	0,0772
Вероятная относительная погрешность, %	1,1	0,776

Пример 2. Выполнение способ. при pH 6.

Для количественного определения винной кислоты в присутствии оксикарбоновых кислот, не содержащих гидроксильных групп в ортоположении, 5 мл 3%-ного анализируемого раствора помещают в мерную колбу емкостью 25 мл, в которую предварительно добавляют 10 мл буферного раствора с pH 6, в 1 л которого содержится 496 мл 9,5 н. раствора аммиака и

504 мл 0,5 н. уксусной кислоты, 1 мл $5 \cdot 10^{-3}$ -ного раствора п-бромфенилфлуорона, 1 мл 3%-ного раствора борной кислоты. Объем доводят до метки той же буферной смесью.

Измерение оптической плотности раствора проводят через 3-4 мин на фотоэлектроколориметре при $\lambda_{\text{эф}} = 540$ нм в кювете с толщиной слоя жидкости 3-5 см относительно раствора 10 для сравнения, готовящегося аналогично, но без добавления анализируемого раствора.

Концентрацию винной кислоты определяют с помощью графика калибровочной функции, построенного на основании измерений оптических плотностей стандартных растворов. 15

Результаты определений:

Взято винной кислоты	5,0 мг	20
Получено	5,01 мг	

Пример 3. Выполнение способа при pH 8,8.

Для установления наличия в органической карбоновой кислоте ортодиоксигруппировки, присутствующей, в частности, в винной кислоте, 2-3 мл 2%-ного раствора, содержащего анализируемую смесь, переводят в мерную колбу емкостью 25 мл, в которую предварительно помещают 15 мл буферного раствора с pH 8,8, в 1 л которого содержится 590 мл 0,5 н. раствора аммиака и 410 мл 0,5 н. раствора уксусной кислоты, 0,5 мл $5 \cdot 10^{-3}$ %-ного раствора п-бромфенилфлуорона, 2 мл 4%-ного раствора борной кислоты. Объем доводят до метки той же буферной смесью. 25

Измерение оптической плотности раствора проводят через 2-3 мин на фотоэлектроколориметре при $\lambda_{\text{эф}} = 540$ нм в кювете с толщиной слоя жидкости 2-3 см относительно раствора, не содержащего анализируемой смеси. 30

Статистически значимое различие в окрасках исследуемого раствора и раствора для сравнения свидетельствует о наличии в растворе винной кислоты. 35

Пример 4. Выполнение способа при pH 5.

5 мл 3%-ного раствора смеси помещают в мерную колбу емкостью 25 мл, в которую предварительно помещают 10 мл буферного раствора с pH 5, в 1 л которого содержится 414 мл 0,5 н. раствора аммиака и 586 мл 0,5 н. раствора уксусной кислоты, 1 мл $5 \cdot 10^{-3}$ %-ного раствора БФ, 0,2 мл 4%-ного раствора борной кислоты. Объем доводят до метки той же буферной смесью. 40

Измерение оптической плотности раствора проводят через 3-4 мин на фотоэлектроколориметре при $\lambda_{\text{эф}} = 540$ нм в кювете с толщиной слоя жидкости 5 см относительно раствора для сравнения, готовящегося аналогично, но без добавления анализируемого раствора. 45

Результаты определений:

Взято винной кислоты	5,0 мг
Получено винной кислоты	
(среднее значение из 10 определений)	2,1 ± 1,8 мг

Таким образом, результаты определений практически недостоверны и систематически занижены, что характерно для коллоидных растворов, оптическая плотность которых всегда меньше, чем истинных. 50

Пример 5. Выполнение способа при pH 9.

5 мл 3%-ного раствора смеси помещают в мерную колбу емкостью 25 мл, в которую предварительно добавляют 10 мл буферного раствора с pH 9,0, в 1 л которого содержится 715 мл 0,5 н. раствора аммиака и 285 мл 0,5 н. раствора уксусной кислоты, 1 мл $5 \cdot 10^{-3}$ %-ного раствора БФ, 0,2 мл 4%-ного раствора борной кислоты. Объем доводят до метки той же буферной смесью. 55

Измерение оптической плотности раствора проводят через 3-4 мин на фотоэлектроколориметре при $\lambda_{\text{эф}} = 540$ нм в кювете с толщиной слоя жидкости 5 см относительно раствора для сравнения, готовящегося аналогично, но без добавления анализируемого раствора. 60

Результаты определений:

Взято винной кислоты	5,0 мг
Получено винной кислоты	
(среднее значение из 10 определений)	0,1 ± 3,8 мг

Таким образом, результаты определений при высоких pH не позволяют не только определить количество винной кислоты, но и дать достоверное заклю-

чение о присутствии последней в анализируемой смеси.

Статистически достоверное количественное определение винной кислоты в присутствии других кислот возможно лишь в интервале рН 6-8,8.

Использование предлагаемого способа по сравнению с известным обеспечивает достаточную специфичность и достоверность, так как ароматические оксикарбоновые и алифатические кислоты жирного ряда и их соли щелочных и щелочноземельных металлов в любых количествах не мешают определению винной кислоты. На результаты количественных определений не влияет присутствие в технических и природных объектах, содержащих винную кислоту, аминокислот, сложных и простых эфи-

ров органических кислот, моно- и полисахаридов и других высокомолекулярных соединений.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ определения винной кислоты в образцах технических продуктов путем обработки водного раствора анализируемой пробы химическими реагентами с последующим фотометрированием полученного окрашенного раствора, отличающийся тем, что, с целью повышения селективности определения, в качестве химических реагентов используют борную кислоту и п-бромфенилфлуорон и обработку ими проводят в среде аммиачно-ацетатного буферного раствора с рН 6-8,8.



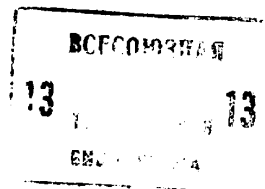
СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1331490** **A1**

(51) 4 A 61 B 5/10

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



(21) 3813108/28-14

(22) 17.08.84

(46) 23.08.87. Бюл. № 31

(71) Днепропетровский медицинский институт

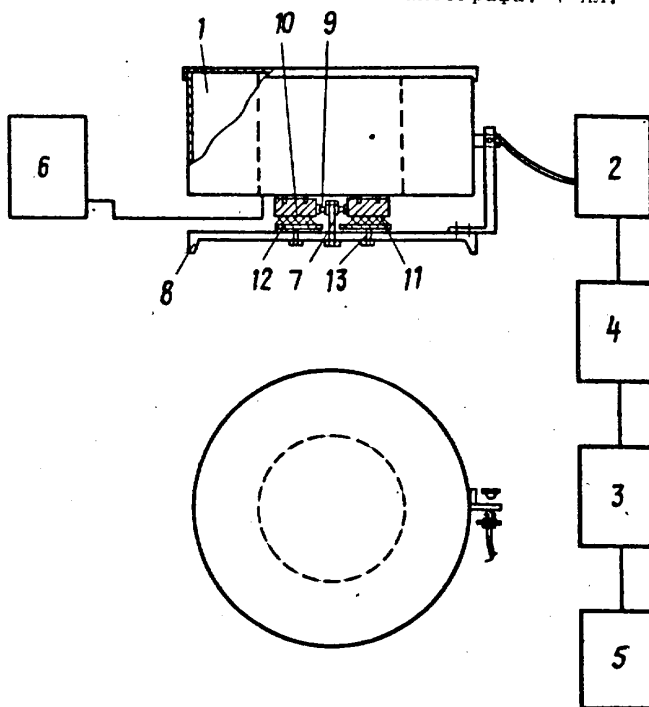
(72) В.Ф.Ушаков, В.К.Бондарь
и А.П.Королев

(53) 615.478(088.8)

(56) Саноцкий И.В. Методы определения токсичности и опасности химических веществ. - М., 1970, с. 163-164.

(54) АКТОГРАФ ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ ДВИГА-
ТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МЕЛКИХ ЛАБОРАТОР-
НЫХ ЖИВОТНЫХ

(57) Изобретение относится к биологии и медицине. Для регистрации активности животных различной массы устройство состоит из основания 1 с цилиндрической камерой 2, преобразователя 3 механических колебаний в электрические, регистрирующего прибора 4, реле времени 5, счетчика импульсов 6, устройства 7 для подачи звуковых и световых раздражителей. Прижимные пластинки 12 позволяют сжимать упругую прокладку 11 и изменять амплитуду колебаний камеры 2 для регулирования чувствительности актографа. 1 ил.



(19) **SU** (11) **1331490** **A1**

Изобретение относится к медицине и биологии, а именно к устройствам для исследования двигательной активности мелких лабораторных животных.

Цель изобретения - регистрация активности животных различного веса.

На чертеже изображен актограф, общий вид.

Актограф состоит из основания 1, на котором установлена цилиндрическая камера 2, преобразователя 3 механических колебаний в электрические, регистрирующего прибора 4, реле 5 времени, счетчика 6 импульсов, устройства 7 для подачи звуковых и световых раздражителей.

Цилиндрическая камера 2 укреплена на оси 8 основания 1 с помощью подшипника 9.

Между обоймой подшипника 10 и основанием 1 установлены упругие прокладки 11. Прижимные пластинки 12 с регулировочными болтами 13 позволяют сжимать прокладку 11 и изменять амплитуду колебаний камеры 2 для регулирования чувствительности актографа.

Актограф работает следующим образом.

Животное помещают в камеру 2, при этом упругая прокладка 11 деформируется, а камера 2 под действием упругой силы совершает затухающие колебания, амплитуда и количество которых

зависят от энергичности и числа движения животного.

Преобразователь 3 механических колебаний в электрические превращает механические колебания камеры 2 в электрические импульсы, которые передаются на регистрирующий прибор 4 и счетчик 6 импульсов. Счетчик 6 импульсов подсчитывает число колебаний камеры 2 за интервал, выбранный с помощью реле 5 времени. Чувствительность актографа регулируют грубо - путем сжатия упругих прокладок 11 прижимными пластинками 12, тонко - переключением уровней чувствительности с помощью преобразователя 3 механических колебаний в электрические и регистрирующего прибора 4 (всего шесть уровней).

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Актограф для измерения двигательной активности мелких лабораторных животных, включающий основание, на котором установлена цилиндрическая камера, преобразователь механических колебаний в электрические и регистрирующий прибор, отличающийся тем, что, с целью регистрации активности животных различного веса, на основании установлены введенные в актограф прижимные пластинки с регулировочными болтами, а между основанием и пластинками выполнены упругие прокладки.

Крауз Владислав Олексійович

Доктор медичних наук, професор, народився у 1938 р., завідувач кафедру фармакології ДМІ з 1979 р. до 1987 р. Вищу медичну освіту одержав у Ленінградському медичному інституті. Працював у науково-дослідному інституті ВІЕМ, вихованець Ленінградської наукової школи академіка С.В. Анічкова. З 1975 до 1979 р. завідував кафедрою фармакології Оренбурзького медичного інституту. З 1980 до 1987 р. – науковий керівник відділу експериментальної патології, гемосорбції і фармакології ДМІ.

Науковий напрямок його роботи - вивчення діяльності мозкових структур і фармакологія пам'яті. Колективом кафедри розроблялась наукова тематика, присвячена пошуку фармакологічних шляхів корекції адаптивних функцій організму в умовах експериментальних станів. Новим аспектом цієї проблеми стало вивчення медіаторних засобів, що відзначали стан проведення нервових імпульсів у синаптичних утвореннях ЦНС.

Під керівництвом Владислава Олексійовича захищено 5 кандидатських дисертацій. Ним опубліковано понад 100 наукових робіт, у тому числі 2 монографії.

У 1987 р. В.О. Крауз повернувся до Ленінграда, де працює зараз завідувач кафедру фармакології фармацевтичного інституту.

Дроздов Олексій Леонідович

Доктор медичних наук, професор Олексій Леонідович Дроздів народився 27 листопада 1956 року в м. Дніпропетровську.

В 1973 році вступив до Дніпропетровського медичного інституту на лікувальний факультет, який закінчив в 1979 р. із червоним дипломом, був рекомендований на наукову працю. В 1981 році обраний асистентом, а з 1991 року – викладачем кафедри фармакології. В 1987 році під керівництвом професора В.О. Крауза захистив кандидатську дисертацію, а в 1993 році під керівництвом засл. діяч науки та техніки України, професора Л. О. Громова та професора В. О. Крауза – докторську дисертацію.

З 1993 року О. Л. Дроздів професор кафедри фармакології, а з 1996 року – завідувачий Центральною науково-дослідною лабораторією (ЦНДЛ) Дніпропетровської державної медичної академії.

Сфера наукових інтересів Олексія Леонідовича лежить в галузі вивчення механізмів функціонування інтегративних функцій мозку, у першу чергу, пам'яті і способів фармакологічного керування ними в умовах патологічних розладів.

У ході проведення досліджень під керівництвом професора О. Л. Дроздова виконано 7 держбюджетних науково-дослідних робіт, 1 фрагмент Української державної науково-технічної програми, 2 науково-дослідні роботи на державне замовлення.

За підсумками науково-дослідних робіт Олексієм Леонідовичем опубліковано 240 робіт, у тому числі 4 монографії, 21 науково-методичний посібник, 74 патента та авторських посвідчень.

В 2002 році був отриманий диплом (№ 190) на наукове відкриття «Закономірність експресії нейроспецифічних білків у структурах головного мозку тварин при формуванні енграм пам'яті» у розробці якого брали участь 5 співробітників ЦНДЛ.

В 2007 році отриманий диплом (№ 337) на наукове відкриття «Закономірність зміни активності катепсинів В, L, Н у структурах; головного мозку тварин при формуванні енграм пам'яті», у розробці теоретичної частини якого брали участь 4 співробітника лабораторії.

Твердохліб Ігор Володимирович

Гістолог, доктор медичних наук, професор, 1965 року народження. У 1988 р. закінчив лікувальний факультет ДМІ. У 1991 р закінчив аспірантуру під керівництвом професора В.І. Архипенка та захистив кандидатську дисертацію "Стан експериментальної аденокарциноми під впливом модифікованої ультрафіолетовим випромінюванням гомологічної матричної РНК", а у 1997 р. - докторську "Закономірності формування гетерогенності серця в ранньому онтогенезі". З 1999 р. завідує кафедрою гістології ДМІ.

Науковий напрямок - розробка математичних методів аналізу біологічних систем та вивчення морфогенезу серцево-судинної системи і патогенезу різноманітних патологічних процесів у серці людини та експериментальних тварин.

Створена інформаційно-методологічна база для з'ясування морфологічних феноменів під час розвитку патологічних станів серцево-судинної системи, прогнозування механізмів адаптації та репарації структурних елементів серцево-судинної системи в умовах фармакологічної корекції функціональних порушень, динамічної характеристики вроджених та надбаних порушень серцевої діяльності на етапах формування та після хірургічної корекції.

Вперше в Придніпров'ї розпочато практичну роботу щодо аналізу біопсійного матеріалу хворих кардіохірургічного профілю, а також аутопсійного матеріалу померлих з використанням сучасної медичної морфологічної бази.

Під його керівництвом проводиться міжкафедральна НДР "Аналіз механізмів морфогенезу серцево-судинної системи і патогенезу різних патологічних процесів у серці людини та експериментальних тварин".

Автор 70 наукових робіт, у тому числі 5 монографій та 4 винаходів. Брав участь у роботі 5 Національних конгресів морфологів, 6 міжнародних конгресів, 8 морфологічних конференцій.

Член редакційної ради фахового журналу "Вісник морфології" (Київ-Вінниця), член Президії Дніпропетровського відділення наукового товариства анатом.в, гістологів, ембріологів та топографоанатомів. Директор Народного Музею історії ДДМА, науковий керівник студентського наукового товариства І медичного факультету ДДМА.



СОЮЗ СОВЕТСКИХ СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ РЕСПУБЛИК

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

АВТОРСКОЕ СВИДЕТЕЛЬСТВО

№ 1402071

На основании полномочий, предоставленных Правительством СССР,
Государственный комитет СССР по делам изобретений и открытий
выдал настоящее авторское свидетельство на изобретение:
"Способ определения 4-(4-трет-амилфенокси)-анилида 1,2-оксинафтойной кислоты"

Автор (авторы) **Крауз Владислав Алексеевич, Дроздов
Алексей Леонидович, Твердохлеб Игорь Владимирович и
Ярош Александр Кузьмич**

Заявитель: **ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ**

Заявка № 4071181

Приоритет изобретения **24 марта 1986г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений СССР

8 февраля 1988г.

Действие авторского свидетельства распро-
страняется на всю территорию Союза ССР.

Председатель Комитета

Начальник отдела



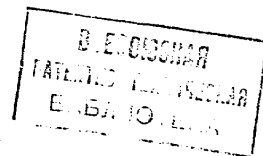
СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1447349 A 2

(51) 4 A 61 B 5/00

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



(61) 1017289
(21) 3910011/28-14
(22) 14.06.85
(46) 30.12.88. Бюл. № 48
(71) Днепропетровский медицинский инсти-
тут
(72) В. С. Котляров
(53) 615.471(088.8)
(56) Авторское свидетельство СССР
№ 1017289, кл. А 61 В 5/00, 1983.

(54) КАМЕРА ДЛЯ ВИТАЛЬНОЙ МИКРО-
СКОПИИ

(57) Изобретение относится к медицинской
технике, точнее к камерам для витальной

микроскопии. Цель изобретения — полу-
чение изображения в четырех проекциях с од-
новременным повышением интенсивности ос-
вещенности микроскопируемого участка тка-
ни. При падении светового луча на нижнюю
прозрачную пластину имеющиеся на внут-
ренней поверхности пластин-иллюминаторов
треугольные призмы полного внутреннего от-
ражения обеспечивают преломление света
под прямым углом относительно друг друга.
Изобретение позволяет обеспечить биомик-
роскопию исследуемых тканей в четырех про-
екциях и создать интенсивную освещенность
исследуемого участка при микрокино- и фо-
тосъемке.

(19) SU (11) 1447349 A 2

Изобретение относится к медицинской технике, а именно к камерам для витальной микроскопии.

Целью изобретения является получение изображения в четырех проекциях с одновременным повышением интенсивности освещенности микроскопируемого участка ткани путем использования на пути светового потока призм полного внутреннего отражения.

На фиг. 1 изображена камера для витальной микроскопии, общий вид; на фиг. 2 - схема прохождения световых лучей через камеру.

Камера состоит из двух прозрачных пластин 1 и 2, которые соединены между собой винтовыми шпильками 3 с гайками 4. На внутренней поверхности каждой из пластин 1 и 2 укреплены по одной призме 5 и 6 полного внутреннего отражения, имеющие в сечении форму прямоугольных равнобедренных треугольников и обращенные друг к другу параллельными катетами.

Камера работает следующим образом.

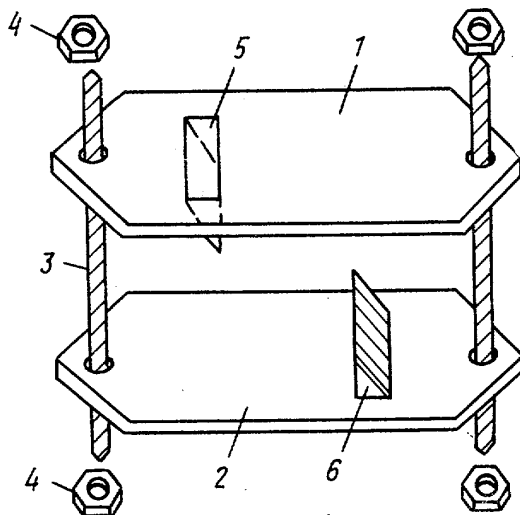
Иссекают исследуемый участок ткани (например, ухо кролика, подкожную соединительную ткань крысы и т.п.), накладывают пластины 1 и 2 на иссеченный участок и соединяют их между собой винтовыми шпильками 3 с гайками 4, проводимыми через отверстия в пластинах 1 и 2 и ткани, ограничивающие разрез. Через 2—3 недели после стихания воспалительного процесса, выз-

ванного операцией, и прорастания грануляционной ткани между пластинами 1 и 2 производят микроскопию тканей, заключенных между пластинами 1 и 2.

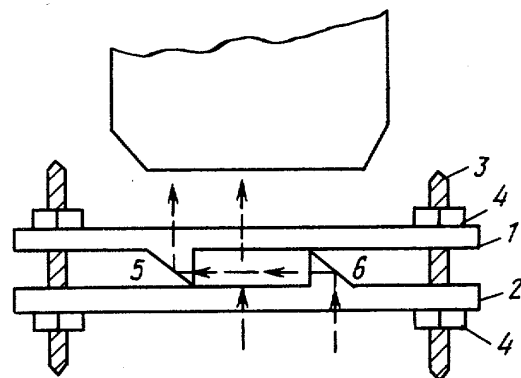
Введение в конструкцию камеры двух призм 5 и 6, обращенных друг к другу вертикальными гранями, позволяет обеспечить биомикроскопию исследуемой ткани в 4 проекциях и создать достаточную для микрокино- и фотосъемки интенсивность освещения исследуемого участка ткани благодаря суммированию световых потоков. Положительный эффект обеспечивается преломлением световых потоков призмами под прямым углом, позволяющим достичь биомикроскопии и освещения тканей в боковых проекциях, в том числе в оптически непрозрачных тканях, например мышцах.

Формула изобретения

Камера для витальной микроскопии по авт. св. № 1017289, отличающаяся тем, что, с целью получения изображения в четырех проекциях с одновременным повышением интенсивности освещенности микроскопируемого участка ткани, на внутренних поверхностях каждой из прозрачных пластин установлено по одной призме полного внутреннего отражения, имеющей каждая в сечении форму прямоугольного равнобедренного треугольника, и призмы обращены одна к другой параллельными катетами.



Фиг. 1



Фиг. 2



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1497808 A1**

(51) 4 A 61 K 37/02, C 07 K 7/06

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 4275649/31-04¹

(22) 01.07.87

(71) Институт органического синтеза
АН ЛатвССР и Днепропетровский меди-
цинский институт

(72) О.С.Папсуевич, Г.И.Чипенс,
В.А.Крауз, А.Л.Дроздов, В.-З.Е.Клуша
и Н.В.Мышлякова

(53) 547.964.4.07 (088.8)

(56) Акимов Г.А., Медведев В.И.
и Бахарев В.Д.

Опыт применения гормонов задней
доли гипофиза при нарушениях памяти
различного генеза. - Журнал невро-
патологии и психиатрии, т.80, вып.12,
1787-1790, 1980.

(54) ПЕНТАПЕПТИД, ОБЛАДАЮЩИЙ АНТИ-
АМНЕСТИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ, СТИМУЛИРУЮ-
ЩИЙ ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ

(57) Изобретение относится к пептид-
ной химии, в частности к пентапепти-
ду формулы Tyr-Phe-Glu-Thr-Lys, ко-
торый может найти применение в меди-
цине в качестве антиамнестического
средства, стимулирующего обучение

Изобретение относится к новому
биологически активному соединению
формулы Tyr-Phe-Glu-Thr-Lys, которое
может найти применение в медицине.

Цель изобретения - поиск новых
соединений в ряду пептидов, нетоксич-
ных и обладающих более высокой анти-
амнестической активностью.

Пример 1. Для синтеза Tyr-
Phe-Glu-Thr-Lys (ИОС-8.2490) ис-
пользуют L-аминокислоты НПО "Биолар"
28-89

²
и память. Цель изобретения - выявле-
ние новых более активных соединений.
Получение их ведут конденсацией ди-
пептида Z-Tyr-Phe-N₂H₃ (L-бензилокси-
карбонил) с трипептидом Boc-Glu(OBzl)-
-Thr-Lys(Z)-OBzl с последующим от-
щеплением защитных групп катали-
тическим гидрированием над палладие-
вой чернью. Полученный пентапептид
очищают гельфильтрацией и затем лио-
филизуют. Пентапептид обладает выра-
женным антиамнестическим действием,
оказывает стимулирующее воздействие
на обучение и долговременную память.
В тесте на выработку условной реак-
ции пассивного избегания у амнези-
рованных животных пентапептид в до-
зе 5 мкг/кг через 2 ч восстанавли-
вает выработанный навык у крыс на
85,7%. Пентапептид оказывает выражен-
ное стимулирующее влияние на форми-
рование и сохранность энграмм памя-
ти у животных, улучшает сохранность
приобретенного навыка в отдаленные
сроки (через 20-30 сут) после вве-
дения. 1 ил., 1 табл.

и фирмы "Реанал" (Венгрия). Темпера-
туру плавления веществ определяют
в открытых капиллярах (без коррек-
ции). Ход реакций и однородность
синтезированных соединений контроли-
руют тонкослойной хроматографией на
пластинках силикагеля фирмы "Мерк"
(ФРГ) в системах: трет-бутанол-н-бу-
танол-уксусная кислота - вода 2:2:
:1:1 (А), н-бутанол - уксусная кис-
лота-пиридин-вода 15:3:10:6 (Б) и

(19) **SU** (11) **1497808 A1**

бензол-уксусная кислота-этилацетат 30:0,5:10 (В). Для проявления хроматограмм используют нингидрин и хлорбензидиновый реактив. Электрофорез проводят в 5 н.уксусной кислоте (рН 1,9) при градиенте потенциала 19 В.см^{-1} на бумаге "Филтрак" FN 17 (ГДР) в течение 2 ч. Удельное оптическое вращение измеряют на поляриметре модели 141М фирмы "Перкин-Эльмер" (США). Гидролиз пептидов проводят в 6 н.соляной кислоте в запаянных ампулах при $105-110^\circ\text{C}$ в течение 20 ч; аминокислотный состав определяют на анализаторе "Ликвимат 111" (Швейцария). Структура синтезированных соединений подтверждена данными элементного анализа и ЯМР-спектроскопии.

Z-Tyr-Phe-OEt (I).

43,83 г (139,0 ммоль) Бензилокси-карбонил-L-тирозина растворяют в 100 мл диметилформамида, охлаждают до -18°C , добавляют 23,9 мл (139,0 ммоль) диизопропилэтиламина и затем 18,4 мл изобутилхлорформата. Через 12 мин при той же температуре и перемешивании добавляют раствор 31,92 г (139,0 ммоль) гидрохлорида этилового эфира L-фенилаланина и 23,9 мл (139,0 ммоль) диизопропилэтиламина в 90 мл диметилформамида. Реакционную массу перемешивают 1 ч при -18°C , затем выдерживают 20 ч в холодильнике ($+5^\circ\text{C}$), разбавляют 0,1 н.соляной кислотой (600 мл), экстрагируют этилацетатом (3x100 мл), органический слой промывают водой, 5%-ным раствором NaHCO_3 , снова водой и сушат над безводным сульфатом натрия. Растворитель отгоняют до половины первоначального объема, прибавляют гексан, выкристаллизовавшийся продукт отфильтровывают, промывают гексаном и сушат. Выход 58,64 г (86%), т.пл. $141-143^\circ\text{C}$ (с 1,0; уксусная кислота), Rf 0,94 (А), 0,91 (Б), 0,41 (В). Литературные данные: выход 52%, т.пл. $141-143^\circ\text{C}$.

Найдено, %: С 68,20; Н 6,11;
N 5,46. $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6$.
Вычислено, %: С 68,56; Н 6,16;
N 5,71.

Z-Tyr-Phe-N₂H₃ (II).

57,64 (117,5 ммоль) соединения 1 растворяют в смеси 500 мл этанола с 50 мл диметилформамида и прибавляют 125 мл гидразингидрата (100%). Через 48 ч выпавший осадок отделяют фильтрованием, промывают этанолом, этилацетатом и эфиром. Выход 43,53 г (78%), т.пл. $237-238^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} -27,1^\circ$ (с 1,0; диметилформамид), Rf 0,84 (А), 0,92 (Б), 0,00 (В).

Найдено, %: С 65,25; Н 5,70;
N 11,58. $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_5$.

Вычислено, %: С 65,53; Н 5,92;

N 11,76.

Woc-Thr-Lys(Z)-OBrI (III).

13,60 г (34,0 ммоль) Woc-Thr-OTcp (2,4,6) растворяют в 200 мл этилацетата, прибавляют 20,20 г (37,4 ммоль) TosOH·Lys(Z)-OBrI и 6,4 мл (37,4 ммоль) диизопропилэтиламина. Через 20 мин и затем через 1 ч прибавляют еще по 3 мл (всего 35,0 ммоль) диизопропилэтиламина. После завершения реакции (около 12 ч) смесь трижды промывают 1н. раствором лимонной кислоты, водой и 5%-ным раствором NaHCO_3 , органический слой сушат над сульфатом натрия, растворитель отгоняют до примерно 1/10 первоначального объема и разбавляют гексаном. Выкристаллизовавшийся продукт отделяют фильтрованием, промывают гексаном и сушат. Выход 13,75 г (74%), т.пл. $82-83^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} -22,6^\circ$ (с 1,0; метанол), Rf 0,98 (А), 0,97 (Б), 0,24 (В). Литературные данные: выход 80%, т.пл. $82-83^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} -22,7^\circ$.
Найдено, %: С 62,87; Н 7,30;

N 7,21. $\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_8$.

Вычислено, %: С 63,03; Н 7,23;

N 7,35.

Woc-Glu(OBzl)-Thr-Lys(Z)-OBrI (V).

9,44 г (16,6 ммоль) соединения III растворяют в 20 мл этилацетата, прибавляют 20 мл 2 н.раствора HCl в этилацетате и после завершения реакции (около 1 ч) растворитель отгоняют. Пенообразный остаток, тщательно высушенный в вакуум-эксикаторе над $\text{P}_2\text{O}_5/\text{KOH}$, растворяют в смеси 20 мл диметилформамида с 80 мл этилацетата, прибавляют 7,75 г (15,0 ммоль) Woc-Glu(OBrI)-OTcp (2,4,5) и 3,0 мл (17,5 ммоль) диизопропилэтиламина. Через 1 ч прибавляют еще 1 мл диизопропилэтила-

мина. После завершения реакции смесь разбавляют 0,1 н. соляной кислотой (300 мл), выдерживают 12 ч при 5°C, выкристаллизовавшийся продукт отделяют фильтрованием, промывают смесь этилацетата с гексаном (1:1) и перекристаллизовывают из смеси ацетонитрила с эфиром. Выход 8,06 г (68%), т.пл. 116–119°C, $[\alpha]_D^{20}$ -12,9° (с 0,5; 10 уксусная кислота), R_f 0,88 (А); 0,93 (Б), 0,12 (В).

Найдено, %: С 63,41; Н 7,00; N 6,90. $C_{42}H_{55}N_4O_{11}$.

Вычислено, %: С 63,70; Н 7,00; N 7,08.

Z-Tyr-Phe-Glu(OBzl)-Thr-Lys(Z)-OBzl (VII).

7,52 г (9,5 ммоль) соединения V растворяют в 10 мл этилацетата (при нагревании до 40°C) и прибавляют 25 мл 2 н. раствора HCl в этилацетате. После завершения реакции (около 1 ч) растворитель отгоняют, пенообразный остаток сушат в вакуум-экстракторе над P_2O_5/KOH . Отдельно 4,53 г (9,5 ммоль) соединения II растворяют в смеси 50 мл диметилформамида и 10 мл 2 н. раствора HCl а этилацетате, охлаждают до -30°C и прибавляют 1,1 мл (9,5 ммоль) трет-бутилнитрита. Через 25 мин при той же температуре реакционную смесь нейтрализуют диизопропилэтиламином до pH 7, прибавляют раствор полученного выше гидрохлорида Glu(OBzl)-Thr-Lys(Z)-OBzl (VI) в 20 мл диметилформамида и 1,3 мл диизопропилэтиламина. Смесь перемешивают 2 ч при охлаждении (от минус 10 до минус 20°C) и выдерживают 48 ч в холодильнике (5°C). Разбавляют 0,5 н. HCl (500 мл), выкристаллизовавшийся продукт отфильтровывают, промывают водой и перекристаллизовывают из смеси диметилформамида с водой. Выход 10,51 г (86%), т.пл. 159–161°C, $[\alpha]_D^{20}$ -19,4° (с 1,0; диметилформамид). R_f 0,99 (А), 0,99 (Б), 0,00 (В).

Найдено, %: С 65,50; Н 6,32; N 7,99. $C_{63}H_{10}N_6O_{14} \cdot C_3H_7NO$.

Вычислено, %: С 65,60; Н 6,42; N 8,11.

Tyr-Phe-Glu-Thr-Lys (VIII).

3,50 г (2,9 ммоль) соединения VII растворяют в смеси 40 мл уксус-

ной кислоты с 60 мл этилацетата и гидрируют над палладиевой чернью. После завершения реакции катализатор отфильтровывают, масло растирают со смесью этанола и эфира (1:1), образовавшийся кристаллический осадок отделяют фильтрованием и промывают эфиром. Получают 2,30 г препарата, 400 мг полученного сырого препарата растворяют в 2,5 мл 0,2н. уксусной кислоты, наносят на колонку (107х х3,3 см) с сефадексом G-15 и элюируют 0,2 н. раствором уксусной кислоты со скоростью 96 мл·ч⁻¹, детектирующая вещество при 280 нм. Соответствующие фракции собирают и сушат лиофильной сушкой. Выход 370 мг (82%), т.пл. 180–182°C, $[\alpha]_D^{20}$ -5,0° (с 0,6; 1 н. уксусная кислота); R_f 0,15 (А), 0,38 (Б), 0,000 (В); $E_{254}^{1\%}$ 0,88, $E_{264}^{1\%}$ 0,90. Содержание пептида в лиофилизате (по азоту) 80%. Аминокислотный анализ: треонин 1,00; глутаминовая кислота 1,17; тирозин 1,01; фенилаланин 0,98; лизин 1,00. Найдено, %: С 62,09; Н 6,12; N 11,76. $C_{33}H_{36}N_6O_5 \cdot 2C_2H_4O_2$. Вычислено, %: С 62,01; Н 6,19; N 11,73.

Определена биологическая активность описываемого соединения.

Пример 2. Влияние описываемого соединения (ИОС-8.2490) на процессы обучения и памяти оценивали по изменению показателей условной реакции пассивного избегания (УРПИ) и условной реакции активного избегания (УРАИ) у животных.

УРПИ вырабатывали на белых крысах линии Вистар в одном сочетании по описанному в литературе методу на основе однократного электрокожного подкрепления. Через 2 ч после выработки пассивно-оборонительного навыка животных подвергали воздействию электротока (20 мА, 500 мс) посредством электродов, наложенных на ушные раковины. Через 72 ч, когда подвижность обученных крыс нормализовалась, проводили проверку сохранения условной реакции. По ее результатам животные разделялись на амнезированных (около 30%) и обладающих УРПИ (до 70%). Влияние соединения ИОС-8.2490 исследовалось через 2–3 ч после тест-отбора у животных обеих групп.

Амнезированным животным пептид вводили внутривенно в дозах 0,5; 2;

5 и 20 мкг/кг. Воспроизведение УРПИ определяли через 30 мин, 2, 24 и 96 ч после инъекции препарата. Животные контрольной группы получали физиологический раствор хлорида натрия. Для сравнения параллельно в аналогичных условиях испытывали ges-9-глицинамид-(8-аргинин) вазопрессин (ДГА-АВП) и Tyr-Phe-Gln-Asn (JFQN) в качестве эталонных соединений.

Результаты исследований показали, что соединение ИОС-8.2490 обладает выраженным антиамнестическим действием. В тесте УРПИ с амнезировавшими животными он значительно превосходит ДГА-АВП (см. чертёж). Так, в дозе 5 мкг/кг он через 2 ч восстанавливает выработанный навык у крыс на 85,7%, тогда как ДГА-АВП - только на 5,6%. Существенное восстановление навыка УРПИ вызывает также JFQN, однако в меньшей мере, чем соединение ИОС-8.2490.

У крыс, сохранивших навык УРПИ после воздействия электрошока, проведено изучение сохранения УРПИ на фоне введения соединения ИОС-8.2490 в дозах 5 и 20 мкг/кг. У животных контрольной группы утрата пассивно-оборонительной реакции после введения физиологического раствора составляла 23% с латентным периодом $52,0 \pm 12,40$ с. Через 30 мин после инъекции исследуемого соединения в дозах 5 и 20 мкг/кг утрата навыка и латентный период "захождения" в затемнённый отсек составляли соответственно 20% ($60,0 \pm 13,23$ с) и 13% ($60,5 \pm 35,5$ с). Таким образом, введение доз соединения ИОС-8.2490 не нарушало процессы воспроизведения энграмм памяти у крыс, обладающих навыком УРПИ.

О формировании и сохранности следа памяти судили по условной реакции активного избегания (УРАИ). Выработку УРАИ проводили в У-образном лабиринте с электрическим полом по известной методике. В качестве условного раздражителя использовали свет, побежка на который избавляла крысу от электрокожного раздражителя, равного болевому порогу животного. Обучение проводили в течение 5 сеансов, в каждом из которых животным предъявлялось по 10 сочетаний условного и безусловного раздражителя. Перед введением препаратов животных

делили на 2 группы; хорошо обученных, у которых число реакций активного избегания превышало 50%, и плохо обученных. Крысам обеих групп вводили исследуемые пептиды в оптимальных дозах: соединение ИОС-8.2490 и JFQN - 5 мкг/кг, ДГА-АВП - 2 мкг/кг.

Результаты исследований показали, что в плохо обученных животных уже через 30 мин соединение ИОС-8.2490 значительно улучшало формирование активно-оборонительного навыка (таблица). Это проявлялось в уменьшении количества ошибок в 2 раза и более. Характерно, что соединение ИОС-8.2490, как и эталонные соединения, улучшает сохранность следа памяти в отдалённые сроки (через 20-30 сут) после введения. Латентный период выполнения активно-оборонительной реакции на 30 день после инъекции предлагаемого препарата в обеих группах имел тенденцию к сокращению. Действие ДГА-АВП на данный параметр характеризовалось достоверным увеличением его продолжительности как у хорошо, так и у плохо обученных животных. У хорошо обученных крыс, в группе которых число ошибок составляло около 17%, соединение ИОС-8.2490 проявляло тенденцию к некоторому ухудшению сохранности УРАИ, не достигавшую порога статистической значимости, JFQN у хорошо обученных крыс особых изменений не вызывал.

Полученные результаты хорошо согласуются с литературными данными о том, что вещества, стимулирующие процессы памяти, в наибольшей степени проявляют свой эффект у животных с низким уровнем кратковременного запоминания, тогда как у животных с высокими показателями памяти исходные параметры, напротив, имеют тенденцию к снижению.

Острая токсичность соединения ИОС-8.2490 изучена в опытах на белых мышцах линии BAL/C. Одной группе мышшей (10 животных) было введено внутривенно 50 мкг/кг, второй группе (10 животных) - 500 мкг/кг и третьей группе (10 животных) - 5 мг/кг соединения ИОС-8.2490. В течение 3 дней не наблюдалось изменений в поведении животных, летальность отсутствовала во всех трех группах.

Изучение биологического действия соединения ИОС-8.2490 показало наличие у него способности эффективно улучшать воспроизведение навыка в первые часы после введения, а также формирование и хранение энграмм памяти в отдаленные сроки. Описываемое соединение не уступает ДГА-АВП по улучшению формирования и превосходит его по оптимизации сохранности и воспроизведению следа памяти. Эти свойства и обуславливают его антиамнестическое действие, стимулирующее обучения и память.

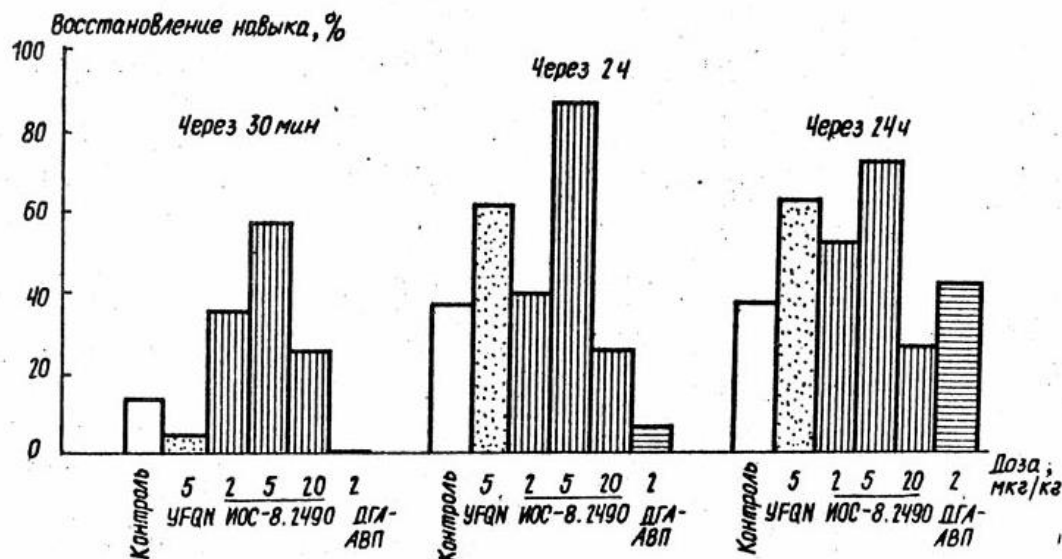
Проведенные испытания показали, что описываемое соединение малотоксично и обладает более высокой антиамнестической активностью при высокой способности стимулирования обучения и памяти. Кроме того, описываемое соединение имеет более простую структуру и более доступно.

Формула изобретения
Пентапептид формулы Tyr-Phe-Glu-Thr-Lys, обладающий антиамнестическим действием, стимулирующий обучение и память.

Влияние соединения ИОС-8.2490, ДГА-АВП и JFQN на показатели УРАИ

Соединение, мкг/кг	Исследуемые параметры	Сроки наблюдения после введения, сут					
		Исходный уровень	30 мин	2	3	20	30
ИОС-8.2490, 5	Число сочетаний	50	25	25	25	25	51
	Реакция извлечения, %	6,0	24,0*	16,0	8,0	20,0	9,8
	Ошибки, %	68,0	28,0*	20,0*	32,0*	32,0*	19,6*
	Латентный период, с	3,88±0,77	3,79±0,57	3,77±0,56	2,78±0,47	4,17±0,63	2,44±0,38
ДГА-АВП, 2	Число сочетаний	30	21	30	30	20	20
	Реакция извлечения, %	3,3	9,5*	26,6*	16,7*	25,0*	75,0*
	Ошибки, %	63,3	19,0*	33,3	26,7*	10,0*	5,0*
	Латентный период, с	2,18±0,37	2,12±0,37	3,73±0,47*	4,10±0,50*	3,13±0,34	7,05±0,51*
JFQN, 5	Число сочетаний	40	30	30	-	30	30
	Реакция извлечения, %	10	36	27	-	31	36
	Ошибки, %	60	41	15	-	28	31
	Латентный период, с	14,21±0,60	3,90±0,40	3,56±0,53	-	4,24±0,57	4,07±0,39

*-p ≤ 0,05 по сравнению с исходным фоном.





СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1724171 A1

(51) 5 A 61 B 5/00

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГИИТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

И АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

1

- (21) 4801920/14
(22) 23.11.89
(46) 07.04.92. Бюл. № 13
(71) Днепропетровский медицинский институт
(72) В.Ф.Ушаков, В.К.Бондарь, А.П.Королев и П.Е.Соколов
(53) 615.476(088.8)
(56) Методы исследования хронического действия вредных факторов среды в эксперименте. Л., 1964, с. 94-102.

- (54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧНОСТИ ХИМИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА
(57) Изобретение относится к медицине и может быть использовано при токсикологических и фармакологических исследованиях. Цель изобретения - ускорение при повышении точности за

2

счет исключения рефлекторных остановок животного. Измеряют время бега животного по третбану до отказа при постепенном увеличении скорости движения ленты третбана от 0 до максимальной после введения исследуемого вещества и сравнивают результаты с физиологической нормой. Осуществляют стимуляцию бега с помощью игл регулируемой в зависимости от толщины кожного покрова животного длины, которые располагают на задней стенке третбана. Ускоренное движение ленты третбана и стимуляция бега животного иглами регулируемой длины позволяют исключить при тестировании рефлекторные остановки животного, что приводит к ускорению и повышению точности способа. 1 табл.

Изобретение относится к медицине и может быть использовано при токсикологических и фармакологических исследованиях.

Известен способ определения токсичности, при котором после введения вещества в организм экспериментального животного определяют значения различных показателей. Один из них - показатель выносливости, который очень часто является лимитирующим при установлении порогов токсического действия вредных веществ. Для определения указанного показателя у мелких лабораторных животных применяют горизонтальный третбан, с помощью которого измеряют продолжи-

тельность бега животных по движущейся ленте.

Этот метод, несмотря на его чувствительность, не находит широкого применения из-за длительности процесса обучения (тренировки) животных бегу и высокого процента выбраковки животных вследствие отказа животных бежать. Животные отказываются от бега в двух случаях - когда пугаются большой начальной скорости движения ленты или от нежелания бегать, т.е. симуляции. В обоих случаях животные прижимаются к задней стенке третбана, опираясь о нее, ограничиваются лишь перебиранием передних конечностей по движущейся ленте. Такие живот-

(19) SU (11) 1724171 A1

ные становятся непригодными для дальнейших экспериментов и подлежат выбраковке. Значительную часть среди забракованных составляют животные со слабым типом нервной системы, что является крайне нежелательным, поскольку такие животные наиболее чувствительны к воздействию ядов, и их выбраковка вносит большую погрешность в определение пороговых концентраций исследуемых веществ. А длительный процесс обучения животных бегу увеличивает трудоемкость проведения исследований.

Цель изобретения - ускорение при повышении точности за счет исключения рефлекторных остановок животного.

Способ осуществляют следующим образом.

Измеряют время бега животного по третбану до отказа после введения исследуемого вещества при постепенном увеличении скорости движения ленты третбана от 0 до максимальной, сравнивают полученные данные с физиологической нормой.

Осуществляют стимуляцию бега с помощью игл регулируемой в зависимости от толщины местного покрова животного длины, которые располагают на задней стенке третбана.

Пример 1. Проведено исследование токсичности диплацин дихлорида на четырех животных (белые крысы).

Двух животных обучали на третбане при движении ленты с постоянной скоростью (40 м/мин), а остальных двух - с применением ускоренного движения ленты ($a=100$ м/мин²) и дополнительной стимуляции иглами длиной 3 мм. На подготовку животных к эксперименту, т.е. выработку навыков бега по третбану, потребовалось в первом случае по 15 мин на 1 животное в течение 6 дн, во втором - по 15 мин в течение 3 дн. Затем двум контрольным животным вводили внутривенно по 1 мл физиологического раствора, а двум - диплацин дихлорид в дозе 4 мг/кг веса животного. Длительность бега животных при постоянной скорости 40 м/мин составляла для контрольного животного 160 с, для опытного 152 с, при ускоренном движении ленты третбана ($a=100$ м/мин²), длительность бега животных составляла у контрольного 128 с, у опытного 56 с.

Результаты данного примера свидетельствуют о существенном различии показателя бега контрольных и опытных животных при применении способа с ускоренным движением ленты и дополнительной стимуляцией иглами. Отношение длительности бега контрольного и опытного животного составляет 2,3, а при использовании постоянной скорости и отсутствии игл 1,1. Это означает, что в данном конкретном случае точность нового способа повышается в 2 раза.

Положительный эффект подтверждается результатами экспериментального исследования по оценке влияния вещества, расслабляющего скелетную мускулатуру (диплацин дихлорид) на выносливость крыс. Использовали два способа оценки выносливости. По первому способу выносливость оценивали при постоянной скорости движения ленты (15 м/мин) и с отсутствием на задней стенке третбана ориентирующих иголок. Во втором способе выносливость крыс оценивали при ускоренном движении ленты (от 0 до 50 м/мин) и с иглками (0,5-7 мм) на задней стенке. Эксперименты проведены на 40 белых беспородных крысах обоего пола массой $176,8 \pm 5,6$ г. Каждую группу составляли 10 крыс. Диплацин дихлорид вводили внутривенно в дозе 4 мг/кг веса животного. Животным контрольных групп в том же объеме внутривенно вводили физиологический раствор. Через 15 мин после введения определяли показатель выносливости животных поочередно контрольных и опытных групп. В первом способе при использовании постоянной скорости и отсутствии ориентирующих иголок на задней стенке достоверных различий показателя выносливости между опытными и контрольными животными не выявлено. Во втором способе при использовании ускоренного движения ленты и наличии ориентирующих иголок на задней стенке различия оказались достоверными ($P=0,001$). Применение предложенного способа позволило обнаружить, что диплацин дихлорид в дозе 4 мг/кг вызывает значительное в (4,5 раза) снижение выносливости животных. С помощью известного способа этот эффект не выявляется.

При сравнении точности измерений оценивали коэффициент вариации, который в первом способе оказался: в опытной группе 26,7%, в контрольной 23,1%; во втором способе в опытной группе 18,1%, в контрольной 14,1%. Таким образом, точность измерений показателя выносливости повысилась в 1,5-1,6 раза.

Продолжительность начальной стадии эксперимента - подготовки животных к бегу на выносливость - сокращается в 2 раза, так как при использовании способа с постоянной скоростью и отсутствии ориентирующих иголок она составила 6-7 дн, а во втором способе при использовании ускоренного движения ленты и наличии ориентирующих иголок 2-3 дн.

Влияние диплацин дихлорида на продолжительность бега крыс, определяемую известным и предлагаемым способами приведено в таблице.

25

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

1. Способ определения токсичности химического вещества путем измерения времени бега животного до отказа по третбану после введения исследуемого вещества и сравнения с физиологической нормой, отличающийся тем, что, с целью ускорения при повышении точности за счет исключения рефлекторных остановок животного, нагрузку создают при постепенном увеличении скорости движения ленты от 0 до максимальной.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что стимулируют бег с помощью игл регулируемой в зависимости от толщины местного покрова животного длины, которые располагают на задней стенке третбана.

Способ оценки выносливости	Контроль, с	Опыт, с	Р
Известный способ			
При движении ленты третбана с постоянной скоростью и отсутствии ориентирующих иголок	71,2±16,4	64,3±17,1	
Предложенный способ			
При ускоренном движении ленты третбана и наличии ориентирующих иголок	121,6±17,1	26,8±4,7	0,001



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

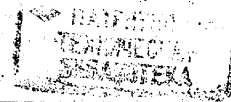
(19) **SU** (11) **1751676 A1**

(51) **G 01 N 33/48**

017 09 2

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



1

(21) 4877157/14

(22) 23.10.80

(46) 30.07.92 Бюл. № 28

(71) Днепропетровский медицинский институт

(72) Л.А.Палиенко, В.Ф.Ушаков, Н.П.Гриша, К.И.Лившиц и С.Д.Крамарь

(56) Ушаков В.Ф. и др. Влияние гепатотропных промышленных веществ на контактные взаимодействия гепатоцитов крыс. — Гигиена труда и профзаболеваний. 1984, № 5, с. 20–22.

(54) СПОСОБ ОТБОРА ВЕЩЕСТВ, ОБЛАДАЮЩИХ ГЕПАТОТРОПНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

(57) Использование: для отбора веществ, обладающих гепатотропным действием. Сущ-

2

ность изобретения: после введения вещества животным под наркозом осуществляют перфузию печени под давлением, деформирующим поверхность, затем берут образцы печени, обрабатывают их для заливки в эпон, делают полутонкие срезы, окрашивают их и проводят морфометрию структур, сформированных поверхностью гепатоцитов под давлением, при этом в качестве структур выявляют впячивания поверхности внутрь клеток, устанавливают отношение площади сечения впячиваний к их количеству и в случае его изменения относительно контроля определяют наличие гепатотропного действия у вещества. Способ прост в исполнении.

Изобретение относится к экспериментальной медицине, в частности к токсикологии, и может быть использовано для ускоренного гигиенического нормирования веществ в средах.

Известны морфологические способы определения результатов действия неблагоприятных факторов окружающей среды на клетки печени животных.

Однако известные способы не обладают высокой чувствительностью, а следовательно, точностью, поскольку позволяют выявлять результаты либо длительного действия гепатотропных веществ, либо краткосрочного действия веществ в концентрациях, намного превышающих пороговые, т.е. таких, которые вызывают значительные структурные изменения ядра и цитоплазмы клеток, что ограничивает их использование при ги-

гиеническом нормировании веществ в средах.

Наиболее близким к предлагаемому является способ определения влияния гепатотропных веществ на контактные взаимодействия гепатоцитов, заключающийся в следующем. После воздействия веществ проводят перфузию органа под давлением, деформирующим поверхность клеток. Затем берут образцы печени, обрабатывают их для заливки в эпон и изготавливают ультратонкие срезы, которые исследуют на просвечивающем электронном микроскопе. На срезах выявляют нарушения в клетках путем морфометрии структур, сформированных поверхностью гепатоцитов, — межклеточных контактов. Получают параметры элементов ультраструктуры контактов и в случае их измене-

(19) **SU** (11) **1751676 A1**

ния определяют влияние гепатотропных веществ.

Известный способ обладает высокой чувствительностью, а следовательно, точностью, поскольку позволяет выявлять результаты краткосрочного действия гепатотропных веществ в концентрациях, близких к пороговым, т.е. таких, которые вызывают минимальные изменения в клетках, в данном случае нарушения поверхности гепатоцитов, без повреждения ядра и цитоплазмы. Однако выявление ультраструктуры контактов гепатоцитов предусматривает использование сложной техники приготовления ультратонких срезов, для исследования которых необходимо применение дорогостоящей и не всегда доступной просвечивающей электронной микроскопии, в результате чего известный способ не может широко использоваться в практике гигиенического нормирования.

Целью изобретения является упрощение способа путем выявления нарушений на светооптическом уровне.

Цель достигается тем, что в способе определения влияния гепатотропных веществ, включающем выявление нарушений в клетках по результату морфометрии структур, сформированных поверхностью гепатоцитов, на препаратах, приготовленных из образцов печени, взятых после перфузии органа под давлением, деформирующим поверхность клеток, и обработанных для заливки в эпон, в качестве структур на полутонких срезах берут впячивания поверхности внутрь клеток, устанавливая отношение площади сечения впячиваний к их количеству и в случае его изменения определяют гепатотропное действие веществ.

Способ осуществляют следующим образом.

Экспериментальным материалом служили 24 белые беспородные крысы-самцы массой 180–200 г каждая. 12 опытных животных подвергали однократной ингаляционной заправке в герметичных камерах в течение 4 ч стиролом (СТ) в концентрации 1100 мг/м³ (6 крыс) и трихлорэтиленом (ТЭ) в концентрации 2500 мг/м³ (6 крыс). В проведенных ранее исследованиях по определению влияния этих веществ на контактные взаимодействия гепатоцитов было установлено, что СТ и ТЭ в вышеуказанных концентрациях изменяют параметры ультраструктуры контактов гепатоцитов, но не вызывают повреждения ядра и цитоплазмы, характерные для деструктивных клеточных форм. 12 контрольных животных были помещены в такие же камеры, в которые поступал атмосферный воздух. Через

18 ч после экспозиции всех крыс поочередно наркотировали 10%-ным тиопенталом натрия, который вводили внутрибрюшинно по 0,5 мл каждому животному. Затем животным вскрывали брюшную полость, через портальную вену в кровеносное русло печени нагнетали раствор Хенкса при T=+37°C под давлением 45 мм рт.ст., вызывающим деформацию поверхности, но не разрушающим клетки. Отток жидкости блокировали наложением лигатур на нижнюю полую вену (выше и ниже печеночной вены). Через 1–1,5 мин после начала перфузии меняли раствор Хенкса на глютаровый альдегид и фиксировали ткани печени в течение 2–3 мин. Затем вычленили одну долю печени и вырезали кусочки размером 1 см³, которые обрабатывали по общепринятой методике для заливки в эпон. После заливки на микротоме изготавливали полутонкие срезы (толщиной 1 мкм). Срезы наклеивали на предметные стекла и окрашивали метиленовым синим – азур-П-фуксином. Покрашенные срезы высушивали и исследовали на световом микроскопе. Проводили морфометрию впячиваний поверхности внутрь клеток наложением планиметрической сетки, имеющей 100 точек, при увеличении x 10 x 90 на 20 полях зрения у каждого животного. Определяли площадь сечения впячиваний (число тест-точек, приходящихся на впячивания) и количество впячиваний на площади среза, ограниченной 100 точками сетки. Затем брали отношение площади сечения впячиваний к их количеству.

Результаты морфометрии препаратов печени у отдельно взятых животных (примеры конкретного выполнения способа) сведены в табл. 1.

Результаты морфометрии препаратов печени по группам животных, обработанные методом вариационной статистики, сведены в табл. 2.

Из представленных в табл. 1 и 2 результатов видно, что стирол и трихлорэтилен обладают гепатотропным эффектом и в концентрациях соответственно 1100 и 2500 мг/м³ вызывают в первом случае увеличение, а во втором – уменьшение отношения площади сечения впячиваний деформированной поверхности гепатоцитов внутрь клеток к количеству впячиваний в единице площади полутонкого среза.

Таким образом, по предлагаемому показателю можно определить действие вещества на клетки печени в концентрациях, не вызывающих повреждения ядра и цитоплазмы, но изменяющих параметры структур,

сформированных поверхностью гепатоцитов.

Использование изобретения упрощает способ отбора веществ, обладающих гепатотропным действием (появляется возможность его реализации на светооптическом уровне). Кроме того, сокращается время исследования препаратов печени, на основании которого определяют гепатотропное действие веществ, за счет приготовления полутонких, а не ультратонких срезов ткани, а также за счет применения значительно меньшей по объему морфометрии, что важно для реализации способа при ускоренном гигиеническом нормировании. Предлагаемый способ позволяет изучать механизм действия гепатотропных веществ на клеточную поверхность и устанавливать границу между регрессивными изменениями и компенсаторно-приспособительной перестройкой клеток печени.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ отбора веществ, обладающих гепатотропным действием, путем введения их в организм, проведения перфузии печени под давлением, деформирующим поверхность клеток, забора образцов и обработки их для заливки в эпон, подготовки срезов, их микроскопии с последующим проведением морфометрического исследования структур, сформированных поверхностью гепатоцитов, отличающийся тем, что, с целью упрощения способа путем выявления нарушений на светооптическом уровне, готовят полутонкие срезы, затем проводят их световую микроскопию и морфометрию впячиваний поверхности внутрь клетки, исследуют площадь их сечения, рассчитывают ее отношение к общему количеству впячиваний и при его изменении относительно контроля определяют наличие гепатотропного действия веществ.

Сердюченко Іван Якович

Фізіолог, доктор медичних наук, професор, 1928 року народження. У 1957 р. закінчив санітарно-гігієнічний факультет Дніпропетровського медичного інституту. У 1964 р. захистив кандидатську дисертацію "Умовно-рефлекторна компенсація експериментальних порушень кровообігу", у 1987 р. - докторську "Нейрофізіологічні механізми порушень та відновлення рухової функції реплантованої кінцівки". У ній об'єднані дані електрофізіологічних досліджень нервової системи, які проводилися автором понад 20 років. Це дослідження сприяло відгалуженню окремих розділів роботи, що в подальшому стали самостійними науковими напрямками.

З 1963 до 1972 р завідував ЦНДЛ ДМІ. З 1985 до 1993 р. завідував кафедрою нормальної фізіології ДМІ, з 1994 р. - професор кафедри.

Основний напрямок досліджень - вивчення нейрофізіологічних механізмів відновлення рухів після ураження нервової системи, дії вимкнення периферії на стан нервових центрів.

У практику навчального процесу запроваджені теоретичні конференції з проблемним вивченням та викладанням навчального матеріалу. З метою уніфікації контролю знань студентів був надрукований навчально-методичний посібник "Тести для контролю знань теоретичного матеріалу з самостійної роботи студентів".

Автор понад 100 наукових праць, 2 винаходів, 32 раціоналізаторських пропозицій. Під його керівництвом захищено 5 кандидатських дисертацій.

Був завідувачим патентним відділом ДМІ.



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

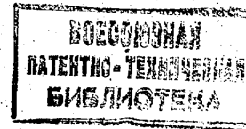
ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО СССР
(ГОСПАТЕНТ СССР)

(19) SU (11) 1782549 A1

(51)5 A 61 B 17/00

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



1

(21) 4646607/63

(22) 03.02.89

(46) 23.12.92. Бюл. № 47

(71) Днепропетровский медицинский институт

(72) И.Я. Сердюченко, Э.Г. Топка, И.Г. Горпинченко, И.Н. Малышкин и И.В. Корпусенко

(56) Авторское свидетельство СССР № 1410955, кл. А 61 В 17/00, 1986.

(54) СПОСОБ АНАСТОМОЗИРОВАНИЯ СЕМЯВЫНОСЯЩЕГО ПРОТОКА

(57) Изобретение относится к медицине, в частности к урологии, и касается формирования анастомозов при операциях на семявыносящем протоке. Целью изобретения является сокращение сроков восстановления перистальтической функции протока и

2

повышение герметичности анастомоза. Для этого производят продольный разрез адвентиции и наружного продольного мышечного слоя дистального конца протока, иссекаются остальные слои, резецируют адвентицию и наружный продольный мышечный слой проксимального конца, круговой мышечный слой проксимального конца вводят между внутренней поверхностью наружного продольного мышечного слоя дистального конца на длину его иссеченных тканей. Сближают и сшивают одним швом круговые мышечные слои обоих концов. Накладывают наружный продольный мышечный слой дистального конца на круговой мышечный слой проксимального конца и сшивают их адвентициально-мышечными швами. 1 ил.

Изобретение относится к медицине, в частности к урологии, и касается формирования анастомозов при операциях на семявыносящем протоке.

Известен способ анастомозирования семявыводящего протока, заключающийся в том, что над иссекаемым участком создают манжетку из адвентициальной оболочки, которую отворачивают в проксимальном направлении, а иссечение проводят послойно, при этом резекцию протока проводят по краям сократившихся мышечных волокон наружного продольного слоя, затем при анастомозировании сшивают наружный продольный мышечный слой проксимального конца с аналогичным слоем и адвентициальной оболочкой дистального конца, после

чего манжетку отворачивают в дистальном направлении и накладывают второй ряд адвентициальных П-образных швов с поперечным направлением по отношению к скрытой части шва.

Соединение анастомозируемых участков "конец в конец" приводит к тому, что репаративная регенерация анастомозов идет за счет образования соединительной ткани, которая содержит меньше нервных стволов, кровеносных и лимфатических сосудов. Это затрудняет передачу перистальтической волны через анастомоз.

Целью изобретения является сокращение сроков восстановления перистальтической функции протока и повышение герметичности анастомоза.

(19) SU (11) 1782549 A1

Поставленная цель достигается за счет того, что производят продольный разрез адвентиции и наружного продольного мышечного слоя дистального конца протока, резекцию адвентиции и наружного продольного мышечного слоя проксимального конца, резекцию кругового, внутреннего продольного мышечного слоя и слизисто-подслизистой оболочек дистального конца, вводят проксимальный конец в дистальный, накладывают наружный продольный мышечный слой дистального конца на круговой мышечный слой проксимального конца, совмещают указанные слои обоих концов в продольной плоскости, сшивают одним швом круговые мышечные слои обоих концов, затем сшивают наружный продольный мышечный слой дистального конца с круговым мышечным слоем проксимального конца, причем формируют Т-образную линию анастомоза.

На схеме представлены основные этапы способа анастомозирования семявыносящего протока. Указаны дистальный и проксимальный концы семявыносящего протока, подготовленные к анастомозированию.

а) В дистальном конце рассечены продольным разрезом адвентициальная оболочка и наружный продольный мышечный слой, резецирован участок кругового внутреннего мышечных и слизисто-подслизистого слоя.

В проксимальном конце резецированы адвентициальная оболочка с наружным продольным мышечным слоем.

Проксимальный конец готов к введению в дистальный, после чего производят сшивание круговых мышечных слоев, а затем накладывают наружный продольный мышечный слой дистального конца на круговой мышечный слой проксимального конца.

б) Произведено сшивание анастомозируемых концов семявыносящего протока.

Пример. Собака, самец, масса 32 кг. Под эфирным наркозом произведен разрез кожи латеральной поверхности мошонки слева. Вскрыты оболочки семявыносящего протока. В рану выведен семявыносящий проток. От стенки протока отпрепарированы сосудисто-нервные образования длиной 1,5 см, произведена резекция участка протока, лишённого сосудисто-нервных образований, длиной 0,5 см. Произведен продольный разрез адвентиции и наружного продольного мышечного слоя дистального конца протока, иссечены оставшиеся мышечно-слизисто-подслизистые слои на протяжении 0,3 см. На таком же расстоянии

резецированы адвентиция и наружный продольный мышечный слой проксимального конца. Круговой мышечный слой проксимального конца введен в туннель, образованный наружным мышечным слоем дистального конца. Круговые мышечные слои обоих концов сближены и сшиты одним швом. Наложен наружный продольный мышечный слой дистального конца на круговой мышечный слой проксимального конца и сшиты адвентициально-мышечными швами. Рана ушита послойно.

На 150 сут. под эфирным наркозом произведено исследование биоэлектрической активности оперированного семявыносящего протока. Исследованы амплитуда, скорость распространения, участок возникновения биопотенциалов. По исследованным параметрам биоэлектрическая активность оперированного семявыносящего протока не имела достоверных отличий по сравнению с контрольной группой, которую составляли интактные семявыносящие протоки неоперированных животных.

На рентгенограмме, произведенной с помощью введенного в просвет протока 5%-ного раствора свинцового сурика, анастомоз проходим.

Семявыносящий проток в месте анастомоза иссечен, фиксирован в 10%-ном растворе нейтрального формалина и исследован гистологически методами Малори-Слинченко, Вильшовского-Гросс и по методу В.В. Куприянова.

В месте анастомоза сформирован нежный соединительный рубец в месте поперечного соприкосновения наружных продольных мышечных слоев обоих концов. В месте прилегания наружного мышечного слоя к круговому содержится минимальное количество зрелой соединительной ткани, здесь же располагаются нервные стволы и сосуды гемомикроциркуляторного русла.

Таким образом, восстановление семявыносящего протока в месте анастомоза, произведенного по предлагаемому способу, происходит к 150 сут., что сокращает время, необходимое для регенерации анастомоза, на 30 сут. по сравнению с прототипом.

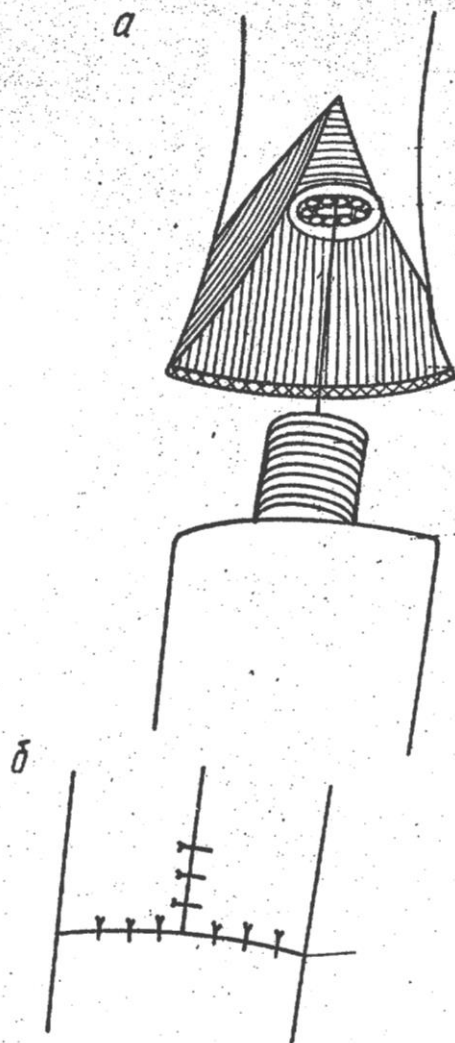
Способ анастомозирования семявыносящего протока может быть реализован в клинических условиях при хирургическом лечении обструкций семявыносящего протока, восстановлении его проходимости при травматическом повреждении, пересадке яичка на сосудистой ножке.

Использование способа наиболее эффективно при лечении обтураций семявыносящего протока.

Формула изобретения

Способ анастомозирования семявыносящего протока, включающий иссечение патологического участка, соединение концов протока по типу "конец в конец", отличающийся тем, что, с целью сокращения сроков восстановления перистальтической функции протока и повышения герметичности анастомоза, продольно рассекают адвентицию и наружный про-

дольный мышечный слой дистального конца, иссекают оставшиеся слои, резецируют адвентицию и наружный мышечный слой проксимального конца протока, сшивают одним швом круговые мышечные слои обоих концов, а затем соединяют адвентициально-мышечным швом наружный мышечный слой дистального конца с круговым мышечным слоем проксимального конца.





СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

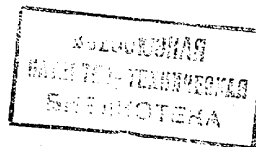
(19) SU (11) 1835257 A1

(51)5 A 61 B 5/11

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО СССР
(ГОСПАТЕНТ СССР)

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



1

2

(21) 4891412/14

(22) 13.12.90

(46) 23.08.93. Бюл. № 31

(71) Днепропетровский медицинский институт

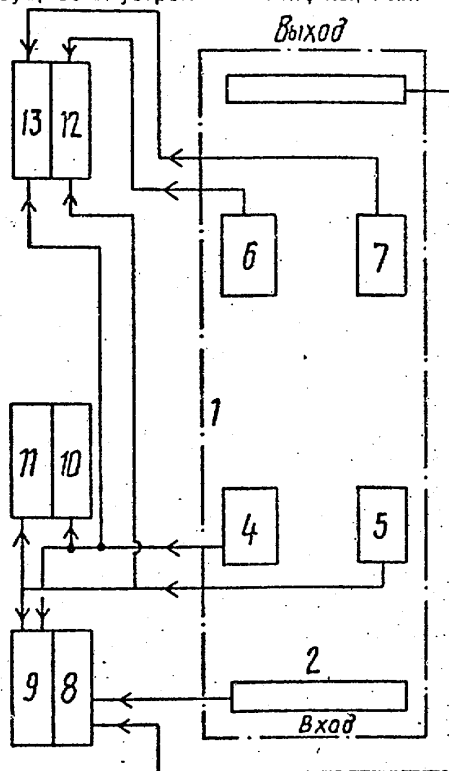
(72) И.Я.Сердюченко, Е.А.Макий и П.М.Мантуло

(56) J. "Physiology", 1986, v. 378, p. 39.

(54) УСТРОЙСТВО ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ПАРАМЕТРОВ ЛОКОМОЦИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

(57) Использование: изобретение относится
к медицинской технике. Сущность: устрой-

ство для определения параметров локомоции лабораторных животных содержит коридор 1, в котором установлены микропереключатели 2, 3, соединенные с регистрирующими устройствами 8, 9, две пары тензодатчиков 4, 5, 6, 7, соединенные с регистраторами усилий и счетчиками 12, 13 времени. Цель - повышение точности определения параметров локомоторных актов конечностей животного и их симметрии. 1 п.ф-лы, 1 ил.



(19) SU (11) 1835257 A1

Изобретение относится к медицине, в частности к устройствам для количественного изучения двигательной активности у мелких лабораторных животных при физиологических, патофизиологических и фармакологических исследованиях.

Целью изобретения является повышение точности определения параметров локомоторных актов конечностей животных и их симметрии.

Изобретение поясняется чертежом, на котором представлена блок-схема устройства.

Устройство для изучения параметров локомоции состоит из коридора 1, на входе и выходе которого расположены микропереключатели 2 и 3, соединенные с лентопротяжным механизмом регистрирующего устройства 8. Между микропереключателями в коридоре 1 на фиксированном расстоянии друг от друга симметрично расположены две пары тензодатчиков 4, 5 и 6, 7 причем тензодатчики 4 и 5 соединены с регистратором усилий 9 и первой парой счетчиков времени 10 и 11, а вторая пара тензодатчиков 6 и 7 – соединена со второй парой счетчиков времени 12 и 13.

Устройство работает следующим образом.

Животное запускают в коридор 1. При нажатии передними лапами на микропереключатель 2 включается лентопротяжный механизм 8 регистрирующего устройства. При дальнейшем продвижении по коридору животное нагружает вначале передними, а затем задними лапами тензодатчики 4 и 5. При этом на ленте регистратора 9 регистрируются два импульса, отражающие нагру-

зочные характеристики передних и задних лап слева и справа. Интервал времени между первым и вторым импульсами слева и справа измеряется счетчиками времени 10 и 11. Первый же импульс от тензодатчиков 4 и 5, отражающий нагрузку передними лапами, одновременно запускает отсчет времени счетчиками 12 и 13. При дальнейшем движении животного по коридору оно нагружает передними лапами тензодатчики 6 и 7, импульс от которых выключает отсчет времени счетчиков 12 и 13. Двигаясь к выходу из коридора, животное нажимает передними лапами на микропереключатель 3, при этом происходит выключение лентопротяжного механизма регистрирующего устройства 8.

Описанное устройство позволяет повысить точность определения параметров локомоторных актов конечностей животного и их симметрии.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Устройство для определения параметров локомоции лабораторных животных, содержащее коридор, в котором установлены микропереключатели, соединенные с регистрирующим устройством, о т л и ч а ю щ е е с я тем, что, с целью повышения точности определения параметров локомоторных актов конечностей животного и их симметрии, между микропереключателями, расположенными на входе и выходе коридора, симметрично размещены две пары тензодатчиков, причем тензодатчики, расположенные со стороны входа, соединены с регистратором усилий и первой парой счетчиков времени, а вторая пара тензодатчиков соединена с второй парой счетчиков времени.

Частина 2.

Період 1992-2011 роки

(патенти на винаходи та корисні моделі України та Росії

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) RU (11) 2014849

(13) C1

(51) МПК⁵ А61М5/00

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 5024400/14, 23.12.1991

(45) Опубликовано: 30.06.1994

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: 1. Гольдман В.Г. Методика длительной внутриаrтериальной инфузии химиотерапевтических препаратов при раке молочной железы. - Вопросы онкологии. - 1976, - N 12,7. - С.3-7.

(71) Заявитель(и):
Малевич О.Е.,
Комский М.П.

(72) Автор(ы):
Малевич О.Е.,
Комский М.П.

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: 2. Тусбаев Г.Т. и Трясучев П.М. Приспособление для внутрисосудистой инъекции с контролирующим давлением. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1986, - N2,90, - с.85-86.

(73) Патентообладатель(и):
Комский Марк
Петрович

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: 3. Авторское свидетельство СССР N 463451, кл. А 61М 5/00, 1975.

(54) УСТРОЙСТВО ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТВОРОВ В СОСУДЫ

Изобретение относится к области медицины, в частности к устройствам для введения лекарственных растворов в сосуды, и может быть использовано в хирургии, интенсивной терапии, реаниматологии, химиотерапии.

Известны устройства для введения инъекционных растворов в сосуды, содержащие тонометры, емкости для инъекционных растворов (банки аппарата Боброва), соединительные трубки и катетеры, вводимые в сосуды [1-2].

Недостатком известных устройств является то, что они не обеспечивают физиологических условий введения лекарственных растворов в сосуды, не позволяют осуществить раздельное введение лекарственных веществ, имеющих различную химическую природу, не обеспечивают достаточно длительной (сутки и более) инъекции лекарственных растворов.

Наиболее близким по технической сущности к изобретению является выбранный в качестве прототипа аппарат внутривенных вливаний, содержащий емкость с лекарственным раствором, присоединительные элементы, индикатор расхода, стабилизатор расхода с программным задатчиком, с блокирующим устройством и двумя трехходовыми кранами, связанными с ним [3].

Недостатком известного устройства является то, что оно не обеспечивает безопасность инфузии лекарственных растворов в регионарную зону, создаваемую при лечении злокачественных новообразований, т.к. врачу неизвестно исходное давление в катетеризированном сосуде.

В результате инъекционное давление в катетеризированном сосуде может превысить давление в кровеносном русле настолько, что приведет к разрыву или

повреждению стенок сосуда, появление постинъекционных осложнений в виде выхождения лекарственных растворов за пределы сосудистого русла и формирования инъекционного отека, а при применении некоторых лекарств, например цитостатиков, и к постинъекционному некрозу в области катетеризации.

Целью изобретения является безопасное, длительное и отдельное введение различных лекарственных веществ после катетеризации.

Указанная цель достигается тем, что устройство снабжено компрессором, блоком сравнения, смесительной камерой, датчиком и регистратором инъекционного давления и ресивером, выполненным в виде полого герметичного цилиндра, при этом смесительная камера расположена между трехходовыми кранами, один из которых соединен с емкостью и катетером, а другой - с атмосферой и датчиком кровяного давления, причем датчики кровяного давления и наличия лекарственного раствора, регистратор и датчик инъекционного давления и компрессор подсоединены к блоку сравнения, а емкость выполнена в виде установленной вверх дном банки для аппарата Боброва и сообщена посредством ресивера и установленного на его входе, дополнительно введенного обратного клапана с компрессором.

На чертеже представлена блок-схема устройства для введения лекарственных растворов в сосуды.

Устройство для введения лекарственных растворов в сосуды содержит последовательно соединенные компрессор 1, ресивер 2 в виде полого герметичного цилиндра с обратным клапаном 3, емкость для лекарственного раствора (банка для аппарата Боброва) 4, трехходовой кран 5, смесительную камеру 6, трехходовой кран 7, датчик кровяного давления 8, блок сравнения кровяного и инъекционного давления 9, датчик 10, датчик наличия лекарственного раствора в емкости 4-11, регистратор инъекционного давления 12 и катетер 13.

Устройство работает следующим образом. При положении вентиля трехходового крана 5 и 7, показанном на позиции А, через свободный патрубок крана 7 (сообщаемый с атмосферой) с помощью шприца заполняют смесительную камеру 6 и соединительные трубки с краном 5 до емкости 4 гепарином, который предупреждает свертывание крови и закупорку магистралей устройства в случае забрасывания крови из катетера 13 в систему через кран 5. Затем к свободному патрубку трехходового крана 5 подсоединяют катетер 13, предварительно введенный и зафиксированный в кровеносном сосуде. После чего переводят вентили кранов 5 и 7 в положения, показанные на позиции Б. При этом катетер

13 напрямую через смесительную камеру 6 сообщается с датчиком кровяного давления 8 (при этом наличие гепарина в смесительной камере 6 предупреждает свертывание крови и тромбирование измерительной системы). С помощью датчика 8 измеряют исходное давление в кровеносном сосуде. Далее датчик 10 устанавливают таким образом, чтобы создаваемое компрессором 1 инъекционное давление не превышало исходное в сосуде более чем на 5-15 мм рт.ст. Затем вентиль трехходового крана 5 переводят в положение, показанное на позиции В, и включают компрессор 1.

Компрессор 1 создает задаваемое датчиком 11 давление, которое через ресивер 2 передается в емкость с лекарственным раствором 4. Наличие ресивера 2 позволяет постепенно повышать давление в системе соединительных трубок и емкости с лекарственным раствором 4 и предупреждает резкие перепады давления при включении компрессора. Обратный клапан 3 в ресивере предупреждает обратный ток жидкости из емкости 4 при выключении компрессора. Вследствие создаваемого компрессором 1 инъекционного давления из емкости 4 лекарственный раствор через кран 5 поступает в катетер 13 и соответственно в сосуд. При этом в позиции В трехходовых кранов 5 и 7 емкость 4 непосредственно сообщается с катетером 13 и датчиком 8. При превышении заданного датчиком 10 инъекционного давления этот перепад регистрируется датчиком 8 и через обратную связь сигнал о превышении давления поступает на блок сравнения 9, который отключает компрессор 1. Как только давление в емкости 4 стало ниже заданного датчиком 10, этот перепад также регистрируется датчиком 8, который через обратную связь подает сигналы на блок сравнения 9, который включает компрессор 1.

Причем, за счет того, что емкость аппарата Боброва 4 установлена вверх дном создается дополнительное давление, позволяющее обеспечить ток лекарственного раствора из сосуда 4 самотеком и уменьшить инъекционное давление, создаваемое компрессором 1.

Таким образом, устройство для введения лекарственных растворов в сосуды позволяет предупредить инъекционные осложнения, связанные с перепадом давления при длительной инъекции лекарственных растворов в сосуды.

Формула изобретения
УСТРОЙСТВО ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТВОРОВ В СОСУДЫ, содержащее емкость с лекарственным раствором, сообщенную с датчиком наличия лекарственного раствора, датчик кровяного давления, два трехходовых крана, катетер, отличающееся тем, что оно снабжено

компрессором, блоком сравнения, смесительной камерой, задатчиком и регистратором инъекционного давления и ресивером, выполненным в виде полого герметичного цилиндра, при этом смесительная камера расположена между трехходовыми кранами, один из которых соединен с емкостью и катетером, а другой - с атмосферой и датчиком кровяного давления и наличия лекарственного

раствора, регистратор и задатчик инъекционного давления и компрессор подсоединены к блоку сравнения, а емкость выполнена в виде установленной вверх дном банки для аппарата Боброва и сообщена посредством ресивера и установленного на его входе дополнительно введенного обратного клапана с компрессором.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) RU⁽¹¹⁾ 2033811 (13) C1

(51) МПК⁶ А61М5/00

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 4903218/14, 16.01.1991

(45) Опубликовано: 30.04.1995

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: Авторское свидетельство СССР N 463451, кл. А 61М 5/00, 1975.

(71) Заявитель(и):
Малевич Олег Евгеньевич,
Комский Марк Петрович

(72) Автор(ы):
Малевич Олег Евгеньевич,
Комский Марк Петрович

(73) Патентообладатель(и):
Малевич Олег Евгеньевич,
Комский Марк Петрович

(54) УСТРОЙСТВО ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТВОРОВ В СОСУДЫ

Изобретение относится к медицине, в частности к устройствам для введения лекарственных растворов в сосуды, и может быть использовано в хирургии, интенсивной терапии, реаниматологии, химиотерапии.

Известны устройства для введения инъекционных растворов в сосуды, содержащие тонометры, емкости для инъекционных растворов (банки аппарата Боброва), соединительные трубки и катетеры, вводимые в сосуды.

Недостатком известных устройств является то, что они не обеспечивают физиологических условий введения лекарственных растворов в сосуды, не позволяют осуществить раздельное введение лекарственных веществ, имеющих различную химическую природу, не обеспечивают достаточно длительной (сутки и более) инъекции лекарственных растворов.

Наиболее близким по технической сущности к изобретению является выбранный в качестве прототипа аппарат внутривенных вливаний, содержащий емкость с лекарственным раствором, присоединительные элементы, индикатор расхода, стабилизатор расхода с программным задатчиком, с блокирующим устройством и двумя трехходовыми кранами, связанными с ним.

Недостатком известного устройства является то, что оно не обеспечивает безопасность инфузии лекарственных

растворов в регионарную зону, создаваемую при лечении злокачественных новообразований, так как врачу неизвестно исходное давление в катетеризированном сосуде.

В результате инъекционное давление в катетеризованном сосуде может превысить давление в кровеносном русле настолько, что приведет к разрыву или повреждению стенок сосуда, появлению постинъекционных осложнений в виде выхождения лекарственных растворов за пределы сосудистого русла и формирования инъекционного отека, а при применении некоторых лекарств, например цитостатиков, и к постинъекционному некрозу в области катетеризации.

Целью изобретения является безопасное, длительное и раздельное влияние различных лекарственных веществ после катетеризации.

Указанная цель достигается тем, что компрессор устройства для введения лекарственных растворов в сосуды соединен с блоком сравнения кровяного и инъекционного давления, на выходе емкости с лекарственным раствором установлена смесительная камера и два трехходовых крана, причем кран, установленный на входе в смесительную камеру, соединен с емкостью и катетером, а другой сообщается с атмосферой и датчиком кровяного давления в сосуде, который в свою очередь охвачен обратной

связью с блоком сравнения кровяного и инъекционного давления, к которому также подсоединены задатчик инъекционного давления, датчик наличия лекарственного раствора в емкости и регистратор инъекционного давления.

На чертеже представлена структурная схема для введения лекарственных растворов в сосуды.

Устройство для введения лекарственных растворов в сосуды содержит последовательно соединенные компрессор 1, предохранительный клапан 2, емкость для лекарственного раствора (банка для аппарата Боброва) 3, трехходовый кран 4, смесительную камеру 5, трехходовой кран 6, датчик кровяного давления 7, блок сравнения кровяного и инъекционного давления 8, задатчик 9, датчик лекарственного раствора 10, регистратор инъекционного давления 11, катетер 12.

Устройство работает следующим образом.

При положении вентиля трехходового крана 4 и 6, показанном на позиции А, через свободный патрубок крана 6 (сообщаемый с атмосферой) с помощью шприца заполняют смесительную камеру 5 и соединительные трубки с краном 4 до емкости 3 гепарином, который предупреждает свертывание крови и закупорку магистралей устройства в случае забрасывания крови из катетера 12 в систему через кран 4.

Затем к свободному патрубку трехходового крана 4 подсоединяют катетер 12, предварительно введенный и зафиксированный в кровеносном сосуде. После этого вентили кранов 4 и 6 переводят в положения, показанные на позиции Б. При этом катетер 12 напрямую через смесительную камеру 5 сообщается с датчиком кровяного давления 7 (при этом наличие гепарина в смесительной камере 5 предупреждает свертывание крови и тромбообразование измерительной системы). С помощью датчика 7 измеряют исходное давление в кровеносном сосуде. Далее задатчик 9 устанавливают таким образом, чтобы создаваемое компрессором 1 инъекционное давление не превышало исходное в сосуде более чем на 5-15 мм рт. ст. Затем вентиль трехходового крана 4 переводят в положение, показанное на позиции В, и включают компрессор 1.

Компрессор 1 создает задаваемое задатчиком 9 давление, которое через предохранительный клапан 2 передается в емкость с лекарственным раствором 3. Клапан 2 в случае разрыва магистрали, сообщающей компрессор 1 с емкостью 3, предупреждает вытекание из емкости 3 лекарственного раствора, находящегося под давлением.

Вследствие создаваемого компрессором 1 инъекционного давления из емкости 3 лекарственный раствор через кран 4 поступает в катетер 12 и

соответственно в сосуд. При этом в позиции В трехходовых кранов 4 и 6 емкость 3 непосредственно сообщается с катетером 12 и датчиком 7. При превышении заданного задатчиком 9 инъекционного давления, этот перепад регистрируется датчиком 7 и через обратную связь сигнал о превышении поступает на блок сравнения 8, который отключает компрессор 1. Как только давление в емкости 3 стало ниже заданного задатчиком 9, этот перепад также регистрируется датчиком 7, который через обратную связь подает сигналы на блок сравнения 8, который в свою очередь включает компрессор 1.

В случае расхода лекарственного раствора в емкости 3 срабатывает датчик наличия лекарственного раствора 10, с него сигнал поступает на блок сравнения 8, который выключает компрессор 1 и тем самым предупреждает забор воздуха в систему и катетер 12 из пустой емкости 3.

Для раздельного или последовательного введения различных лекарственных веществ повторяют, не вынимая катетера 12 из сосуда все перечисленные выше манипуляции (показанные на позициях А, Б, В). После промывки системы возможно введение в тот же сосуд через тот же катетер 12 нового лекарственного раствора.

Подключенный к блоку сравнения 8 регистратор инъекционного давления 11 (самописец) позволяет записать на ленту все изменения инъекционного давления, которые имели место в процессе инъекции, что важно для врача при оценке хода введения лекарственных препаратов в сосуды.

Формула изобретения
УСТРОЙСТВО ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТВОРОВ В СОСУДЫ, содержащее емкость с лекарственным раствором, датчик кровяного давления и датчик наличия лекарственного раствора, и два трехходовых крана, отличающееся тем, что, с целью обеспечения безопасности длительного и раздельного введения различных лекарственных веществ после катетеризации сосуда, в него введены компрессор, блок управления компрессором, смесительная камера, задатчик инъекционного давления и регистратор инъекционного давления, смесительная камера расположена между трехходовыми кранами последовательно, один трехходовой кран соединен с емкостью и катетером, а другой с атмосферой и датчиком кровяного давления, выход датчика кровяного давления связан с блоком управления компрессора, к которому подсоединены задатчик инъекционного давления, регистратор инъекционного давления, датчик наличия лекарственного раствора и компрессор, который связан с емкостью для лекарственного раствора.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) RU (11) 2064795

(13) C1

(51) МПК⁶ A61M1/00

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 5032796/14, 09.12.1991

(71) Заявитель(и):

Малевич Олег Евгеньевич[UA],
Комский Марк Петрович[UA]

(45) Опубликовано: 10.08.1996

(72) Автор(ы):

Малевич Олег Евгеньевич[UA],
Комский Марк Петрович[UA]

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: Методика длительной инфузии
химиотерапевтических препаратов. Журнал "
Вопросы онкологии" N 7, 1970.

(73) Патентообладатель(и):

Комский Марк Петрович (UA)

(54) УСТРОЙСТВО ДЛЯ РЕГИОНАРНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

Использование: в медицине для лечения злокачественных опухолей челюстно-лицевой области методом регионарной инфузии противоопухолевых препаратов. Сущность изобретения: устройство содержит средство для подачи лекарственных веществ с катетером, средство для регистрации кровяного давления. Согласно изобретению вводят смесительную камеру, капельницу для антикоагулянта и три трехходовых крана, первый установлен между средством для подачи лекарственного вещества, катетером и смесительной камерой, второй - между смесительной камерой и третьим трехходовым краном и третьим своим каналом открыт в атмосферу, а третий трехходовой кран вторым и третьим каналами подключен к капельнице и средству регистрации давления, выполненному в виде мембранно-реостатного датчика давления, включенного в плечо измерительного моста переменного тока, диагональ которого подключена двухкаскадному усилителю с отрицательной обратной связью, выход которого через выпрямитель связан с самописцем. Конструкция устройства позволяет предупредить травмирование стенок сосудов и тканей, а также осуществить возможность последовательного и раздельного введения лекарственных

веществ в регионарную зону при химиотерапии опухолей. 3 ил.

Изобретение относится к медицине, в частности к устройствам для лечения злокачественных опухолей челюстно-лицевой области методом регионарной инфузии противоопухолевыми препаратами.

Принцип регионарной химиотерапии заключается в создании в области локализации опухоли особых условий кровообращения за счет перевязки отводящих кровеносных сосудов, что приводит к резкому снижению скорости и интенсивности кровообращения в области опухоли и значительно увеличивает время контакта противоопухолевых препаратов, вводимых в сосудистое русло с самой опухолью, что существенно повышает эффективность лечения, снижает концентрацию высокотоксичных цитостатических препаратов, вводимых в опухоль. При этом в созданной таким образом регионарной зоне резко изменяются условия кровообращения, поэтому вводить в сосуды химические препараты необходимо крайне осторожно, т. к. даже незначительное превышение кровяного давления в регионарной зоне приводит к выраженным осложнениям в виде разрывов стенок сосудов, стазам кровотока, отеку тканей, некрозу стенок сосудов, выраженному болевому синдрому и пр.

Для регионарной химиотерапии челюстно-лицевой области обычно используют стандартный шприц, которым через катетер, введенный в сосуд, производят инъекцию противоопухолевого препарата в регионарную зону.

Недостатком известного устройства является то, что оно не исключает возможности появления целого ряда осложнений: введение противоопухолевого препарата без учета кровяного давления в регионарной зоне приводит к расстройствам микроциркуляции, стазам, отеку тканей, смещению и выпадению катетера, подтеканию препарата в операционную рану, нагноению в ране, разрывам сосудов, некрозу стенок сосудов и тканей регионарной зоны, выраженному болевому синдрому в процессе введения цитостатика. Дело в том, что после перевязки отводящих и приводящих сосудов в созданной регионарной зоне резко снижается давление крови по сравнению с исходным. В связи с тем, что кровоснабжение регионарной зоны сохраняется за счет мелких сосудистых ветвей давление во всех участках сосудистого русла регионарной зоны уравнивается, приближаясь к давлению в капиллярах. Кровоток замедлен. В связи с индивидуальными особенностями кровоснабжения регионарной зоны у каждого индивидуума будут регистрироваться различные величины кровяного давления в регионарной зоне после перевязки магистральных отводящих и приносящих сосудов. Давление также меняется в зависимости от степени изоляции регионарной зоны. В этих условиях введение противоопухолевого препарата с помощью шприца под неконтролируемым давлением, значительно превышающим исходное кровяное давление в регионарной зоне, приводит к выраженным расстройствам микроциркуляции, стазам, гидростатическому отеку тканей, смещению и выпадению катетера из сосуда, разрывам сосудов, подтеканию препарата в окружающие сосуд здоровые ткани, выраженному болевому синдрому в процессе введения цитостатика. На фоне выраженных патофизиологических и морфологических изменений в тканях опухоли указанные измерения, как правило, приводят к некрозу тканей регионарной зоны и затрудняют поступление противоопухолевых препаратов в опухоль. Инъекция с помощью шприца нецелесообразна также в связи с тем, что при этом вообще нельзя контролировать давление, под которым противоопухолевый препарат вводят в регионарную зону.

Наиболее близким к предполагаемому изобретению является устройство, состоящее из двух банок аппарата Боброва, тонометра для измерения давления и резиновых трубок для аппарата АДВИ-3 [3]

Недостатком известного устройства является то, что оно не позволяет обеспечить физиологическое введение цитостатиков в сосуд, т. к. при этом неизвестно исходное давление в регионарной зоне, кроме того, такое устройство не позволяет обеспечить раздельное введение лекарственных веществ через один и тот же катетер.

Целью изобретения является повышение эффективности лечения и сокращение сроков пребывания больного в стационаре за счет предупреждения расстройств микроциркуляции и осложнений в сосудистом русле регионарной зоны, в которой находится опухоль, в виде разрывов сосудов, смещения и выпадения катетера, подтекания препарата в окружающие сосуд здоровые ткани, тромбообразования, некрозов тканей, устранения болевого синдрома при введении в регионарную зону цитостатиков и тем самым обеспечения поступления цитостатика в опухоль на протяжении заданного курса лечения, а также обеспечения возможности последовательного и раздельного введения противоопухолевых препаратов.

Указанная цель достигается тем, что устройство для регионарной химиотерапии злокачественных опухолей челюстно-лицевой области содержит средство для подачи лекарственного вещества с катетером и средство регистрации кровяного давления прямым методом, причем оно также содержит смесительную камеру и три трехходовых крана, один кран установлен на входе в камеру, а два других последовательно соединены на выходе из нее, причем второй кран на выходе системы соединен с датчиком кровяного давления мембрано-реостатного типа, включенным как плечи измерительного мостика, который запитывают переменным напряжением, снимаемым с обмотки силового трансформатора, а усилитель выполнен двухкаскадным на трех транзисторах и охвачен отрицательной связью, причем на выходе усилителя установлен выпрямительный мостик на четырех диодах для согласования с самопишущим прибором постоянного тока, на котором осуществляется графическая регистрация кривой артериального давления.

Сопоставительный анализ с прототипом позволяет сделать вывод, что заявленное устройство отличается от известного введением новых конструктивных элементов и новым сочетанием известных элементов: наличием смесительной камеры, один трехходовый кран установлен на входе в камеру, а на выходе установлены 2 трехходовых крана, последовательно соединенные между собой, причем второй кран на выходе системы соединен с датчиком кровяного давления мембрано-реостатного типа, соединенного с высокочувствительной

электронной системой графической регистрации давления. Таким образом, заявляемое техническое решение соответствует критерию "новизна".

Анализ известных технических решений [1, 2, 3] показал, что некоторые введенные в заявляемое решение структурные элементы известны, например приспособление для регистрации кровяного давления, система трубок и кранов для введения цитостатиков. Однако в заявляемом техническом решении применяется ранее не используемая конструкция приспособления для прямого измерения кровяного давления и его контроля в регионарной зоне и инъекционной системе в процессе регионарной химиотерапии, а также новое конструктивное расположение трехходовых кранов. Кроме того, применение в известных устройствах манометра и трехходовых кранов не обеспечивает последним такие свойства, которые они приобретают в заявляемом техническом решении: физиологичность введения лекарственных веществ, исключая возможность инъекционных осложнений, возможность длительной раздельной инфузии препаратов в регионарную зону. Таким образом, предлагаемое конструктивное решение придает устройству новые свойства, что позволяет сделать вывод о соответствии заявляемого технического решения критерию "существенные отличия".

На фиг. 1 представлена функциональная схема устройства.

Устройство для регионарной химиотерапии злокачественных опухолей состоит из системы для введения лекарственных веществ и устройства для измерения и регистрации давления жидкости в сосуде. Система для введения лекарственных веществ содержит три трехходовых крана 1, 2, 3 и смесительную камеру 4, заполненную жидкостью, предупреждающей свертывание крови. Кран 1 установлен на входе системы, краны 2, 3 на выходе из нее. К крану 1 через трубопровод 5 присоединен шприц 6 для дозированного введения цитостатиков. Кран 1 через катетер 7 соединяется с сосудом 8. Кран 1 сообщается со смесительной камерой 4 через трубопровод 9. Смесительная камера 4 соединяется с краном 2 посредством трубопровода 10. Кран 2, в свою очередь, через трубопровод 11 сообщается с атмосферой, а через трубопровод 12 с краном 3. Кран 3 через трубопровод 13 соединяется с капельницей 14, предназначенной для заполнения системы противосвертывающей жидкостью и для промывания системы в случае ее тромбирования. Кран 3 через катетер 15 соединяется с мембрано-реостатным датчиком типа МДД-Те-1-250-16, который включен как плечо измерительного мостика 17, который соединяется с усилителем, состоящим из двух каскадов 18, 19. На

выходе усилителя установлен выпрямительный мостик 20, который передает электрический сигнал на регистрирующее устройство (самопишущий прибор постоянного типа Н 370 АМ).

На фиг. 2 изображена схема устройства электрическая принципиальная. Устройство для измерения и регистрации кровяного давления состоит из датчика Д и усилителя, а самопишущий прибор постоянного тока Н 370 АМ (на чертеже не показан). В качестве датчика Д используют мембрано-реостатный датчик типа МДД-Те-1-250, на входе которого укреплен переходная муфта и соединительный катетер 15 (фиг. 1). Датчик включен как плечо измерительного мостика Р Р Д, который запитывают переменным напряжением, связанным с обмоткой силового трансформатора Тр1. Усилитель состоит из двух каскадов, выполненных на транзисторах Т₁, Т₂, Т₃. Усилитель охвачен отрицательной обратной связью Р₁₃. На выходе усилителя установлен выпрямительный мостик на диодах Д₁ Д₂ Д₃ Д₄. Датчик Д (фиг. 2) регистрирует колебания кровяного давления в сосуде и преобразует его в электрический сигнал, который усилителем и передается на самописец (на чертеже не показан). Самописец регистрирует изменения давления в сосуде в виде кривой, по которой и определяют исходное давление в сосуде, а также давление вводимого противоопухолевого препарата.

На фиг. 3 представлена схема работы системы трехходовых кранов для введения цитостатиков. При положении А вентиля кранов 1, 2, 3 производят заполнение системы раствором гепарина. Для этого при отсоединенном шприце 6 и катетере 7 через трубопровод 13 крана 3 на капельницы 14 заполняют систему раствором гепарина.

При положении Б вентиля кранов 1, 2, 3 производят измерение давления в сосуде. Для этого катетер 7 крана 1 соединяют с сосудом 8 и измеряют давление устройством для измерения и регистрации давления 16 21.

При положении В вентиля кранов 1, 2, 3 шприцем 6 через трубопровод 8 и катетер 7 крана 1 вводят цитостатик в сосуд 8 при одновременной регистрации давления устройством для измерения и регистрации давления 16 21.

При положении Г вентиля кранов 1, 2, 3 через трубопровод 11 крана 2 производят уравнивание давления внутри системы с атмосферным.

При положении Д вентиля кранов 1, 2, 3 из капельницы 14 через трубопроводы 13, 12, 10, 8 в систему подают раствор гепарина, который выходит через трубопровод 5 крана 1 при отсоединенном шприце 6. Таким образом, промывка системы осуществляется без извлечения катетера из сосуда. После промывки системы можно вводить новый, отличный по механизму

действия и химическим свойствам от предыдущего цитостатик, не вынимая катетера из сосуда.

Таким образом, предлагаемая конструкция устройства позволяет обеспечить физиологическое введение цитостатика в регионарную зону челюстно-лицевой области, что достигается в предварительной регистрации исходного уровня кровяного давления и последующей инфузии лекарственных препаратов под давлением, адекватным исходному. Кроме того, устройство обеспечивает раздельное последовательное введение лекарственных препаратов различного химического состава без извлечения катетера из сосуда и тем самым создает возможность для длительной химиотерапии. Заявляемое устройство было испытано на 60 больных, во всех случаях отсутствовал болевой синдром, не выявлялись признаки некрозов, повысилась эффективность регионарной химиотерапии, выразившаяся в сокращении сроков пребывания больных в стационаре с 4-5 недель до 2 недель.

Формула изобретения

Устройство для регионарной химиотерапии злокачественных опухолей

челюстно-лицевой области, содержащее средство для подачи лекарственного вещества с катетером для связи с кровеносным сосудом пациента и средство регистрации давления, отличающееся тем, что в него введены смесительная камера, капельница для антикоагулянта и три трехходовых крана, первый из которых установлен между средством для подачи лекарственного вещества, катетером для связи с кровеносным сосудом и смесительной камерой, второй установлен между смесительной камерой и третьим трехходовым краном и третьим своим каналом открыт в атмосферу, а третий трехходовой кран вторым и третьим каналами подключен к капельнице для антикоагулянта и средству регистрации давления, выполненному в виде мембранно-реостатического датчика давления, включенного в плечо измерительного моста переменного тока, диагональ которого подключена к двухкаскадному усилителю с отрицательной обратной связью, выход которого через выпрямитель связан с самописцем.

Дзяк Георгій Вікторович

Академік Національної Академії Медичних Наук України, доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри госпітальної терапії № 2. Заслужений діяч науки і техніки України. Лауреат Державної премії України, почесний громадянин м. Дніпропетровськ, депутат Дніпропетровської міської ради, почесний член Української федерації вчених, заступник голови асоціації терапевтів, кардіологів України, голова Проблемної комісії Міністерства охорони здоров'я і Національної Академії Медичних Наук України «Кардіологія і ревматологія», член Європейського кардіологічного товариства, заступник головного редактора видання «Український кардіологічний журнал», головний редактор журналу «Медичні перспективи».

Народився 20 березня 1945 року. У 1968 році закінчив з відзнакою Дніпропетровський орден Трудового Червоного Прапора медичний інститут за спеціальністю «лікувальна справа». В період навчання в аспірантурі названого закладу захистив кандидатську дисертацію «Особливості зовнішнього дихання і кардіогемодинаміки у спортсменів-плавців, підводників і водолазів» (1970). У 1971 році тут же розпочав трудову діяльність асистентом кафедри госпітальної терапії, у 1980 році захистив докторську дисертацію «Гіпертрофія і дистрофія міокарда як наслідок гіперфункції серця», з 1979 - завідувач кафедри госпітальної терапії. У 1983 році йому присвоєно звання професора. Перший проректор з навчальної роботи у 1987-1996 роки, з 1996 року - ректор Дніпропетровської державної медичної академії.

Професор Г.В. Дзяк - всесвітньо-відомий вчений у галузі терапії і талановитий організатор вітчизняної науки. Він створив наукову школу кардіологів і ревматологів України.

Під його керівництвом виконано 48 кандидатських та 14 докторських дисертацій. Результати наукових досліджень професора і його колег відбито в понад 400 наукових публікаціях. Під редакцією і при безпосередній участі Георгія Вікторовича видано вісімнадцять монографій, дев'ять навчально-методичних посібників та підручник із внутрішніх хвороб. Георгій Вікторович має 31 авторське свідоцтво і є співавтором двох відкриттів.

Пріоритетними напрямками наукової роботи Георгія Вікторовича лишаються кардіологія та ревматологія. Особлива увага приділяється питанням профілактики та лікування атеросклерозу, гіпертонічної хвороби, ішемічної хвороби серця, остеоартрозу, ревматоїдного артрити. Створено центр із діагностики та лікування артеріальної гіпертензії. До клінічної практики впроваджено сучасні методи лікування хворих на гострий інфаркт міокарда (тромболітична терапія, стентування). На сучасному рівні

проводиться діагностика та лікування складних порушень ритма і провідності серця.

Теоретичні й практичні надбання Георгій Вікторович виклав у низці монографій, серед яких «Гиперлипидемии, атеросклероз, ише-мическая болезнь сердца», «Невідкладні стани в клініці внутрішніх хвороб», «Сердце спортсмена - анализ биомеханика», «Нестероидные противовоспалительные препараты», «Хвороби органів серцево-судинної системи», «Ренальные эффекты производных вазопрессина», «Тромбо-эмболия легочной артерии», «Суточное монито-рование артериального давления», «Пептиды вазопрессинового ряда и поведения».

Як керівник вузу Георгій Вікторович Дзяк багато уваги приділяє співдружності науково-дослідної та навчально-методичної, видавничої діяльності колективу ДДМА з іншими закладами України та зарубіжжя. Ректор Г.В. Дзяк - ініціатор створення медичного центру, діагностичного центру, клініки медичної академії. Створення таких підрозділів забезпечило умови підвищення якості підготовки фахівців на додипломному та післядипломно-му рівнях.

Вклад Г.В.Дзяка в науку та охорону здоров'я був неодноразово відзначений урядовими нагородами: орденом «За заслуги» III ступеня (1997), II ступеня (2001), медаллю «За заслуги в охороні здоров'я» імені МД. Стражеско (2001). Г.В. Дзяк нагороджений золотою медаллю Альберта Швейцера за великі заслуги у справі гуманізму та медицини, орденом «Святого Станіслава» IV ступеня (2001). Ім'я Георгія Вікторовича відомо далеко за межами нашої країни. Його обрано академіком Нью-Йоркської академії наук (1998) та Академії медицини Польщі (1998). Г.В. Дзяк є членом Європейського кардіологічного товариства, дійсним членом Петровської академії наук та мистецтв Росії, міжнародної професорської асоціації.

(11) **31908 A**

(51) МПК А61К 31/715 (2006.01); А61К 35/00 (2006.01)

(24) 15.12.2000

(21) 98116104 (22) 18.11.1998

(46) 15.12.2000, бюл. № 7

(71) ДЗЯК ГЕОРГІЙ ВИКТОРОВИЧ (UA)

(72) Дзяк Георгій Вікторович (UA); Дроздов Олексій Леонідович (UA); Ярош Олександр Кузьмич (UA)

(73) ДЗЯК ГЕОРГІЙ ВИКТОРОВИЧ (UA)

(98) Морфокорпус ДДМА, патентний відділ, вул. Севастопільська, 19, м.Дніпропетровськ, 49005, (UA)

(54) **КОМПЛЕКСНИЙ СЕДАТИВНИЙ ЗАСІБ**

Винахід відноситься до медицини, переважно до ліків і медикаментів для терапевтичних цілей, а саме, до засобів, що засновані на використанні простих або складних ефірів і екстрактів рослинного походження, й може бути використаним у фармакології при масовому виготовленні седативних препаратів з розширеним спектром дії.

Комплексні седативні засоби вживають при неврозах з підвищеною нервовою збудливістю, слабо виражених спазмах коронарних судин, тахікардії, безсонні, на ранніх стадіях розвитку гіпертонічної хвороби, стенокардії тощо.

Відомий комплексний седативний засіб («Валокордин»), що містить етиловий ефір α -бромізовалеріанової кислоти як седативно-спазмолітичний агент, фенобарбітал як седативно-судиннопоширюючий агент, масло м'яти перечної як рефлексорний спазмолітично-судиннопоширюючий агент, масло хмелю та суміш спирту етилового 96% з дистильованою водою, при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

етиловий ефір α - бромізовалеріанової кислоти	2,00
фенобарбітал	2,00
масло м'яти перечної	0,14
масло хмелю	0,02
суміш спирту етилового 96% з дистильованою водою	решта [1].

Подібна седативно-спазмолітична активність властива обраному за прототип вітчизняному седативному засобу {«Корвалолу»), що містить етиловий ефір α -бром-ізовалеріанової кислоти як седативно-спазмолітичний агент, фенобарбітал як седативно-судиннопоширюючий агент, масло м'яти перечної як рефлексорний спазмолітично-судиннопоширюючий агент, ідкий натр як розчинник фенобарбіталу та суміш спирту етилового 96% з дистильованою водою, при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

етиловий ефір α -бромі ювалеріанової кислоти	2,00
фенобарбітал	1,82
масло м'яти перечної	0,14
ідкий натр	3,00

суміш спирту етилового 96% з дистильованою водою

решта [2].

Наявність ідкого натру забезпечує перетворення фенобарбіталу в легко розчинний фенобарбітал-натрій, завдяки чому прискорюється загальна седативно-спазмолітична дія «Корвалолу».

Базисом «Корвалолу» є етиловий ефір α -бромізовалеріанової кислоти, якому властива седативно-спазмолітична дія. Фенобарбітал, що розчиняється ідким натром, посилює седативну функцію базису та обумовлює центральний спазмолітичний ефект. Масло м'яти перечної є рефлексорно діючим судинно-поширюючим і спазмолітичним компонентом комплексу.

Проте, терапевтичній дії «Корвалолу» є притаманними відносно вузький спектр терапевтичної дії та обмежена ефективність впливу, що обмежує показання до його вживання.

До основи комплексного седативного засобу, що підлягає удосконаленню, поставлено задачу розширити показання до його вживання шляхом розширення спектру терапевтичної дії та ефективності впливу при використанні в сумісній лікарській формі.

Означений технічний результат, який може бути отриманим при здійсненні винаходу, досягається тим, що до відомого комплексного седативного засобу, що містить етиловий ефір α -бромізовалеріанової кислоти як седативно-спазмолітичний агент, фенобарбітал як седативно-судиннопоширюючий агент, масло м'яти перечної як рефлексорний спазмолітично-судиннопоширюючий агент, ідкий натр як розчинник фенобарбіталу та суміш спирту етилового 96 % з дистильованою водою, особливість визначається в тому, що додатково введено верапаміл, при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

етиловий ефір α - бромізовалеріанової кислоти	1,95 - 2,05
фенобарбітал	1,80 - 1,85
масло м'яти перечної	0,13 - 1,15
ідкий натр	2,95 - 3,05
верапаміл	3,80 - 4,20
суміш спирту етилового 96% з дистильованою водою	решта

Верапаміл (Уегаратііт) являє собою 5[(3,4 - діметоксифенетил) - метіламіно]-2- (3,4 - діметоксифеніл)-2- ізопропілвалеронітріл гідрохлорид і за хімічним складом є ускладненим варіантом молекули фенілалкілкіламіна.

Раніше вважалося, що верапаміл діє як адренолітична речовина, а в останні часи - як антагоніст до йонів кальцію. Верапаміл послабляє метаболічні витрати, розслабляє гладкі м'язи БІДНІВ, зменшує скорочувальну функцію міокарду, агрегацію тромбоцитів, понижує тонус коронарних та інших артерій. Антиангінальні властивості засобу в сукупності з його антагонізмом до йонів Са⁺⁺ сприяють підвищенню кількості калію в клітинах міокарду. Верапамілу також притаманні натрій-уретичний та діуретичний ефекти, завдяки зниженню каналцевої реасорбції, що обумовлює його широке вживання [3].

Послання верапамілу з «Корвалолом» в одній лікарській формі дозволило отримати понадсумарний результат, що проявляється в гіпотензивній дії, яка при окремому вживанні засобів була не істотною. Додаткове використання верапамілу розширює можливість застосування пропонуємого комплексного засобу в профілактиці гіпертонічної хвороби, тахікардії та шлуночко-серцевих аритмій.

Це пояснюється тим, що, по-перше, додаткове поширення серцевих судин і підвищення коронарного кровотоку поліпшує стан утилізації та економічності кисневих витрат у міокарді, а по-друге, сполучення центральної заспокійливої дії зі зменшенням скорочувальної функції міокарда та розширенням артерій викликає гіпотензивний ефект, що сприяє компенсації диспропорційних явищ у міокарді.

За вказаною пропозицією, верапаміл додається в кількості 3,80-4,20 %, що надає комплексу нові додаткові властивості, внаслідок сполучення верапамілу з інгредієнтами «Корвалолу»,

Введення верапамілу в кількості меншій за 3,80 % вважаємо недоцільним, бо при цьому значно знижується гіпотензійна активність комплексу, що пропонується.

Введення верапамілу в кількості понад 4,20 % недоцільно тому, що з'являються ознаки передозування [3].

Таким чином, ознака, що заявляється, є суттєвою, бо вона використовується не за відвертим призначенням і має причинно-слідчий зв'язок з вищезазначеним технічним результатом. Це перетворення є новим не тільки по відношенню до прояву гіпотензивної дії, раніше не притаманної прототипній речовині, але й по відношенню до корисної зміни вже відомих властивостей, а саме, до підвищення ефективності впливу.

Аналіз технічного рівня не дозволив встановити аналога, що характеризувався б сукупністю прикмет, що є тотожною до суттєвих ознак засобу, про який йдеться.

Таким чином, винахід, що заявляється, відповідає умові «новизна».

При перевірці відповідності об'єкта умові «винахідницький рівень» заявником було встановлено використання «Верапамілу» лише в окремій таблетованій лікарській формі як антиангіального та антигіпертензивного препарату, а його зв'язок з седативним базисом, а також можливість отримання зазначеного ефекту при додаванні верапамілу до інших речовин у кількості, що заявляється, не були встановленими [3].

Вживання верапамілу без седативного комплексу не може забезпечити реалізації стійкого гіпотензивного ефекту при лікуванні чи профілактиці згаданих захворювань. Вживання «Верапамілу» у відомому вигляді зменшує ефективність впливу, особливо при екстрасистолії, шлуночко-серцевій аритмії тощо. Антиаритмічні властивості даного препарату пригнічуються в разі збудження ЦНС, що обмежує показання до його амбулаторного вживання.

Заявник передбачає отримання важливого понадсумарного результату, а саме, виявлення гіпотензивного ефекту, як складової частки спектру терапевтичної дії, та підвищення ефективності впливу всього комплексу, що розширює показання до його медичного вживання. При цьому виявлено, що складові частини комплексу виявляють активність, яка перевершує їх активність у окремому вживанні.

Досягнення технічного результату зумовлено відсутністю впливу «відомих засобів перетворення» на властивості цього результату, відсутністю кількісної основи заявлюємих прикмет з відомими зв'язками та залежностями, обґрунтовано кількісним співвідношенням складових Інгредієнтів і застосуванням верапамілу в формі, що відрізняється від існуючої.

Отже, комплексний седативний засіб, що заявляється, відповідає умові «винахідницький рівень», як такий, що не впливає з рівня техніки відвертим чином.

У процесі виготовлення комплексного седативного засобу встановлено, що додавання верапамілу не супроводжується явищами фізичної або хімічної несумісності. Технологія виготовлення, можлива лікарська форма та умови зберігання аналогічні «Корвалолу».

В експериментах відстежено, що гостра токсичність лікарського засобу, що заявляється, при внутрішньошлунковому введенні білим щурам суттєво не відрізняється від токсичності «Корвалолу» (LD-50 >10 мл/кг).

Для експериментальної перевірки засобу, що заявляється, було задіяно 20 білих щурів, з метою відстеження токсичності з боку препаратів, що вводилися, яку оцінювали по даним реакції, а саме, по відхиленню від вихідного стану (у %) частоти серцевих скорочень (ЧСС) і дихання (ЧД), з урахуванням

середньоарифметичного значення (М) та коефіцієнта середньоквадратичних відхилень (т). Дані спостережень наведені у Таблицях № 1,2.

Порівняння експериментальних даних показує, що використання верапамілу у комплексі, що заявляється, не супроводжується підвищенням токсичної дії і суттєво не змінює седативних властивостей «Корвалолу». У віддаленому періоді всі тварини, що зазнавали введення «Корвалолу» у комплексі з верапамілом витримали іспити та залишилися життєздатними.

Дані перевірки диференційованої кількості верапамілу у комплексному седативному засобі, що забезпечує вказаний технічний результат, наведено у Таблиці №3.

Приклад 1. Для отримання комплексного седативного засобу були взяті зазначені інгредієнти при їх наступному кількісному співвідношенні (мас.%):

етиловий ефір а - бромізовалеріанової кислоти	1,95
фенобарбітал	1,80
масло м'яти перечної	0,13
їдкий натр	2,95
верапаміш	3,75
суміш спирту етилового 96% з дистильованою водою	решта

Вказане дозування верапамілу дозволило відстежити прояви нестабільності гіпотензивної дії, а також повне зникання останньої в разі його подальшого зменшення в рецептурі.

Приклад 2. Для отримання комплексного седативного засобу були взяті зазначені інгредієнти при їх наступному кількісному співвідношенні (мас.%):

етиловий ефір а - бромізовалеріанової кислоти	2,05
фенобарбітал	1,85
масло м'яти перечної	1,15
їдкий натр	2,95
верапаміл	3,80
суміш спирту етилового 96% з дистильованою водою	решта

Вказане дозування верапамілу дозволило відстежити прояви стабільної гіпотензивної дії (зменшення тиску на 6,1±2,0 мм рт ст).

Приклад 3. Для отримання комплексного седативного засобу були взяті

зазначені інгредієнти при їх наступному кількісному співвідношенні (мас.%):

етиловий ефір а- бромізовалеріанової кислоти	2,00
фенобарбітал	1,82
масло м'яти перечної	0,14
їдкий натр	3,00
верапаміл	4,20
суміш спирту етилового 96% з дистильованою водою	решта

Вказане дозування верапамілу дозволило відстежити прояви гіпотензивної дії (зменшення тиску на 15,7±2,4 мм рт ст та ЧСС на 12,3±4,9 за хв-ну).

Приклад 4. Для отримання комплексного седативного засобу були взяті зазначені інгредієнти при їх наступному кількісному співвідношенні (мас.%):

етиловий ефір агбромізовалеріанової кислоти	2,05
фенобарбітал	1,85
масло м'яти перечної	0,13
їдкий натр	3,05
верапаміл	4,25
суміш спирту етилового 96% з дистильованою водою	решта

Вказане дозування верапамілу дозволило відстежити прояви гіпотензії, але збільшення вмісту верапамілу супроводжувалося негативними явищами, які полягали в посиленні гіпотонії та порушенні ритму серцевої діяльності (синусова брадікардія) та пригніченні провідної системи серця (при зменшенні тиску на 25,2 ±3,0 мм рт ст).

Наведені приклади дозволяють вважати кількісне співвідношення верапамілу 3,80 - 4,20 в комплексному седативному засобі оптимальним.

Заявник вважає, що заявленому об'єкту властиво розширення показань до його вживання шляхом розширення спектру терапевтичної дії та ефективності впливу за рахунок набуття гіпотензивного ефекту, що досягається використанням комбінації відомих засобів у спільній лікарській формі.

Фармакологічне виробництво препарату, що заявляється, рентабельне й швидке, в освоєнні.

Отже, заявлений об'єкт задовольняє умові «промислова придатність».

(11) **21213 А**

(51) МПК А61С 5/02 (2006.01)

(24) 04.11.1997

(21) 96104027 (22) 23.10.1996

(46) 04.11.1997, бюл. № 0

(71) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ (UA)

(72) Воробійов Валерій Володимирович (UA); Дичко Євген Никифорович (UA); Дроздов Олексій Леонідович (UA)

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ (UA)

(54) **СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ПУЛЬПИТУ**

1. Способ лечения пульпита путем обезболивания, антисептической обработки поверхности пульпы, нанесения на область пульпы лечебной прокладки в виде смеси, содержащей кортикостероидный препарат, преимущественно преднизолон, и белую глину, фиксации временной пломбой с последующим постоянным пломбированием, отличающийся тем, что

Изобретение относится к медицине, а именно к терапевтической стоматологии, и может быть использовано при лечении пульпита в посттравматическом периоде.

Гистологические исследования срезов зубов на фоне предшествующего травматического воздействия выявило, что вблизи перелома коронковая пульпа резко отекает, наблюдаются механические разрывы тканей и сосудов, сопровождающиеся массивными кровотечениями. Сосуды микроциркуляторного русла заполнены сладжированными эритроцитами в виде массивных конгломератов, что указывает на отсутствие терминального кровотока в данной области пульпы.

В микрососудах наблюдается пристеночное стояние лейкоцитов, адгезии тромбоцитов, диатез форменных элементов крови, указывающий на нарушение сосудистой проницаемости.

Таким образом, наряду с механическим повреждением пульпы развиваются выраженные нарушения микроциркуляции, что приводит к развитию на 3 сутки некротических изменений в коронковой пульпе, которая на срезах представлена фрагментами пропитанной фибриногеморрагическими массами рыхлой соединительной ткани.

Одновременно происходит гибель одонтобластов и отторжение пульпы от дентина.

В детской стоматологии применяются различные методы лечения пульпита, имеющие определенные достоинства и недостатки [Стоматология детского возраста / Под ред. АА Колесова. М., Медицина, 1991, с.136-155]:

1) лечение коронковой и корневой пульпы с целью сохранения ее жизнеспособности и физиологической активности (биологический метод);

на область пульпы наносят лечебную прокладку в виде смеси белой глины, биологического стимулятора и преднизолон в соотношении 3:1:0,6.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что в качестве биологического стимулятора используют стекловидное тело.

- 2) витальная ампуляция пульпы;
- 3) высокая ампуляция пульпы;
- 4) витальная экстирпация;
- 5) девитальная ампуляция;
- 6) девитальная экстирпация.

Выбор метода лечения пульпита у детей зависит от групповой принадлежности зубов, стадии их развития и диагноза заболевания.

Известные биологические методы лечения пульпита [В.С.Иванов и др. Воспаление пульпы зуба, М., "Медицина", 1990, с.96-118], заключающиеся в обезболивании, антисептической обработке поверхности пульпы, нанесении на область пульпы лечебной прокладки, фиксацией временной пломбой, с последующим постоянным пломбированием предусматривают применение различных лечебных прокладок (прототип).

Наиболее часто пользуются пастой (лечебной прокладкой) с гидроокисью кальция - кальцемином, а также цинк-эвгеноловой пастой.

При лечении пульпита в 2 посещения применяют при первом препараты антимикробного и противовоспалительного действия: глюкокортикоиды, витамины, ферменты.

Большинство клиницистов как в нашей стране, так и за рубежом при лечении пульпита биологическими методами отдают предпочтение препаратам на основе гидроокиси кальция.

Однако в последние годы увеличилось количество отдаленных отрицательных результатов лечения пульпита с использованием препаратов на основе гидроокиси кальция. При наложении гидроокиси кальция не исключена возможность полной кальцинации ткани пульпы не только в коронковой части, но и в корневом канале.

Использование кальмецина при лечении острого очагового пульпита нередко приводит к изменениям пульпы: через полгода после лечения нормальная электровозбудимость пульпы отмечена всего в 57,9%, некроз пульпы - в 1,9% случаев.

В связи с этим стали применять различные комбинации гидроокиси кальция с антибиотиками, кортикостероидными препаратами, препаратами крови.

При лечении биологическими методами используют различные типы лечебных прокладок, например по В.С.Иванову и Э.Э. Лейбургу (используемая при лечении по прототипу): колимицин 100000 ЕД, гидрокортизон 0,01-0,5 (или преднизолон 0,006), белая глина 0,5, персиковое масло для приготовления пасты.

Лечение биологическими методами завершают наложением на лечебную пасту (прокладку) искусственной дентина, фосфатцементной прокладки и постоянной пломбы.

Однако известные способы лечения пульпита с применением лечебных прокладок как аналог, так и прототип обладают рядом недостатков.

Проведенная серия экспериментов подтвердила сложившееся в научной литературе мнение о недостаточной эффективности использования для лечения посттравматического пульпита препаратов, содержащих соединения кальция.

Несмотря на достаточно интенсивный рост травмированного зуба, формирование новой коронки сопровождается комплексом дистрофических изменений в мягких и патологических изменений в твердых тканях зуба, свидетельствующие о неполноценном характере репаративной регенерации, истощении функциональных резервов и, в конечном итоге, нарушении физиологических условий жизнедеятельности сформированного регенерата на месте перелома коронки. Причем, репаративная регенерация в этих условиях сопровождается таким нежелательным явлением, как формирование в пульпе зуба вторичных отложений в виде дентиклей.

Учитывая способность развивающихся дентиклей заполнять всю пульпарную полость, сливаясь друг с другом, можно прийти к заключению о том, что они являются еще одним фактором нарушающим репаративные процессы.

В основу изобретения поставлена задача снять воспаление, ускорить репаративные процессы ткани пульпы и увеличить скорость формирования корня зуба, что дает функциональную полноценность этого корня для дальнейшего протезирования.

Поставленная задача достигается тем, что в способе лечения пульпита (в посттравматическом периоде), заключающемся в обезболивании,

антисептической обработке поверхности пульпы, нанесении на область пульпы лечебной прокладки в виде смеси кортикостероидного препарата, преимущественно преднизолона, и белой глины, фиксацией временной пломбой с последующим постоянным пломбированием, согласно изобретению на область пульпы наносят лечебную прокладку в виде смеси белой глины, биологического стимулятора и преднизолона в соотношении 3:1:0,6.

В качестве биологического стимулятора используют стекловидное тело.

Данное соотношение лечебных препаратов является наиболее оптимальным при лечении пульпита данным способом.

Проведенные нами эксперименты подтвердили то, что введенное в лечебную прокладку биологического стимулятора в виде стекловидного тела обладает свойствами стимулировать пролиферативные процессы в ткани, в частности, костной.

А характер изменений выявленных при применении окиси алюминия в виде белой глины в качестве лечебной прокладки отличается от таковых при использовании кальмецина.

Основное отличие заключается в менее выраженных дистрофических изменениях коронковой пульпы, что связано с вяжущими свойствами окиси алюминия, обеспечивающими ранний гемостаз и предупреждающими развитие гнойно-некротического изменения тканей пульпы.

Кроме того, соединения алюминия обладают значительно менее выраженной щелочной реакцией по сравнению с соединениями кальция. Известно, что выраженные щелочные свойства алюминия сами по себе вызывают некроз ткани пульпы в месте контакта с лечебной прокладкой. Этого недостатка лишена лечебная прокладка на основе окиси алюминия.

Применение преднизолона приводило к уменьшению выраженности некроза и воспалительных процессов в пульпе зубов после травматического воздействия.

А лечение пульпита с использованием лечебной прокладки в виде комплекса лечебных препаратов окиси алюминия в виде белой глины, стекловидного тела и преднизолона позволило снять воспаление, сохранить жизнеспособность пульпы, ускорить репаративные процессы ткани пульпы и увеличить скорость формирования корня зуба.

Использование данного метода лечения уже на 3 сутки наблюдаются признаки нормализации гемоциркуляции, в сосудах отсутствуют сладжированные конгломераты эритроцитов, хотя гиперемия сохраняется. В эти сроки наблюдается лимфоцитарно-гистиоцитарная

инфильтрация по ходу микроциркуляторного русла, что указывает на активацию макрофагической системы пульпы. На шестые сутки наблюдается возрастание количества гемокапилляров.

Усиленный антигенез является одним из механизмов экстренной регенерации пульпы.

В результате активации транспорта комплекса препаратов через эндотелиальный слой происходит возрастание микропиноцитозных везикул стенки гемокапилляра спустя 6 суток.

Сформировавшийся заместительный дентин в месте дефекта коронки резко снижает диффузию ингредиентов из прокладки в пульпу.

Возрастание слоя одонтобластов коррелировало с увеличением толщины субдотобластического и периферического слоев пульпы. Промежуточный и центральные отделы пульпы были представлены нежнотоволокнистой соединительной тканью, пронизанной густой сетью полнокровных кровеносных сосудов.

К исходу лечения в месте дефекта формируется перегородка вторичного заместительного дентина.

Таким образом, применение предлагаемого способа лечения пульпита в совокупности признаков, изложенных в формуле изобретения, позволяет решить поставленную новую задачу - снять воспаление, сохранить жизнеспособность пульпы, ускорить репаративные процессы ткани пульпы и увеличить скорость формирования корня зуба для последующего протезирования.

Способ лечения пульпита осуществляют следующим образом.

Под проводниковой анестезией (обезболивание) производят антисептическую медикаментозную обработку культи пульпы растворами перекиси водорода 3%, хлоргексидина 0,05%. Затем на обнаженную культю пульпы наносят лечебную прокладку в виде смеси

белой глины, биологического стимулятора в виде стекловидного тела и преднизолона в соотношении 3:1:0,6. После этого фиксируют временной пломбой на 7 суток.

В результате активации транспорта комплекса препаратов (стекловидное тело, преднизолон и белая глина) через эндотелиальный слой происходит возрастание микропиноцитозных везикул стенки гемокапилляра пульпы, репаративная регенерация пульпы, к исходу лечения в месте дефекта формируется перегородка вторичного заместительного дентина. Вместе с тем сформировавшийся заместительный дентин в месте дефекта коронки резко снижает диффузию ингредиентов из прокладки в пульпу. Через 7 суток временную пломбу заменяют на постоянную.

Пример. Больной Ф., 7 лет. Обратился по поводу травмы центрального верхнего резца слева. Диагноз: посттравматический пульпит II зуба. Под проводниковой инфрарангитальной анестезией 2% раствором лидокаина проведено иссечение видимо нежизнеспособной пульпы, затем произведена обработка культи пульпы 3% раствором перекиси водорода и 0,05% раствором хлоргексидина. На обнаженную культю пульпы наносят лечебную прокладку в виде смеси белой глины, стекловидного тела и преднизолона на 7 суток с фиксацией временной пломбой. Во второе посещение жалоб не было. Была удалена временная пломба, под пульпой образован дентинный мостик. На зуб наложена постоянная пломба. Отдаленные результаты благоприятные. Через год электровозбудимость пульпы 25 мкА.

Применение предлагаемого способа лечения пульпита позволяет снять воспаление, сохранить жизнеспособность пульпы, ускорить репаративные процессы ткани пульпы и увеличить скорость формирования корня зуба для последующего протезирования.

Дзяк Людмила Антонівна

Невропатолог, доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України, лауреат Державної премії України, 1948 року народження. У 1973 р. закінчила ДМІ. З 1973 до 1982 р. - лікар-невропатолог неврологічного відділення клінічної лікарні Придніпровської залізниці. З 1976 до 1978 р. - клінічний ординатор кафедри нервових хвороб ДМІ, з 1978 до 1988 р. - лікар-невролог обласної клінічної лікарні ім. І.І. Мечникова.

У 1976 р. захистила кандидатську дисертацію "Состояние микроциркуляции и мозгового кровообращения у больных гипертонической болезнью", а у 1991 р. - докторську "Мозговой инсульт (клинические, структурно-функциональные, иммунные взаимоотношения и прогноз течения)"

З 1982 р. до 1992 - асистент, а з 1992 р. - професор кафедри нервових хвороб Дніпропетровського медичного інституту. З 1994 р. - завідувача кафедрою нервових хвороб та нейрохірургії факультету післядипломної освіти ДДМА.

Науковий напрямок - цереброваскулярна патологія. Під керівництвом Людмили Антонівни для реалізації комплексних заходів щодо медичної допомоги хворим на цереброваскулярну патологію у регіоні створена система надання етапної допомоги хворим на цереброваскулярну та спиноvasкулярну патологію, компонентами якої є спеціалізовані мобільні бригади швидкої медичної допомоги, невролого-нейрохірургічна клініка на базі обласної лікарні ім. І.І. Мечникова, регіональні центри гострої цереброваскулярної патології, територіальні ангіо-неврологічні кабінети, раєбілітаційний стаціонар і цереброваскулярний санаторій "Дніпровський". Відкритий ендovasкулярний центр, де активно використовуються методики внутрішньосудинних оперативних втручань (балонування артеріальних аневризм головного мозку, емболізація артеріо-венозних мальформацій, балонна ангіопластика та стенування при оклюзійно-стенозуючих ураженнях брахіоцефальних та інтракраніальних артерій). Розробляється можливість використання тромболітичних препаратів у найгострішому періоді церебральних ішемії. За розробки у цій галузі у 1995 р. Людмила Антонівна була нагороджена медаллю ВДНГ України. Під керівництвом Л.А. Дзяк на кафедрі виконані дві конкурсні тематичні роботи Міністерства охорони здоров'я України "Розробка нових методів хірургічного лікування й інтенсивної терапії ішемічного інсульту в гострому періоді" і "Клінічна оцінка діагностичних і прогностичних особливостей імунологічних методів при ішемічних інсультах". Другим пріоритетним науковим напрямком діяльності професора Л.А. Дзяк є вертеброгенна патологія нервової системи. Відкрито центр ендоскопічної нейрохірургії, де використовуються малоінвазивні методики нейрохірургічних втручань: лазерна вапоризація та ендоскопічна дискотомія при дисковій патології шийного та попереково-

крижового відділів хребта. Здійснюється тісна взаємодія з неврологами та нейрохірургами Німеччини, Ізраїлю, США.

Крім цього проводяться активні дослідження у галузі епілепсій та епілептиформних синдромів. Динамічно розвивається співробітництво із суміжними дисциплінами: проводяться мікрохірургічні оперативні втручання з приводу невринома присінково-равликового нерва, аденома гіпофізу, що об'єднують зусилля оториноларингологів та нейрохірургів, розроблені програми комбінованого лікування пухлин ЦНС із використанням хіміопроменевої терапії. Тісне співробітництво здійснюється з кафедрами госпітальної терапії, акушерства і гінекології і травматології й ортопедії для вирішення питань багатофакторної поразки організму в жінок із постоварієктомічним синдромом. Розробляються проблеми лементуючих процесів та їхнього зв'язку з церебральною та кардіоваскулярною патологією.

Разом із співробітниками Центральної науково-дослідницької лабораторії ДДМА проводяться дослідження участі нейроспецифічних білків (NCAM і ГКФБ) у хворих із дисциркуляторними енцефалопатіями, гострими порушеннями мозкового кровообігу. Встановлені закономірності експресії нейроспецифічних білків у структурах головного мозку тварин при формуванні енграм пам'яті.

Автор понад 200 наукових праць, у тому числі 6 підручників та навчальних посібників, 14 винаходів. Під її керівництвом захищено 3 докторських та 9 кандидатських дисертацій.

В 1998 р. Л.А.Дзяк надано звання Заслуженого діяча науки й техніки України.

Член Президії Українського науково-практичного товариства невропатологів, психіатрів і наркологів, член Європейської федерації неврологічних товариств.

Чорна Валентина Іванівна

Доктор біологічних наук, професор Чорна Валентина Іванівна народилася 12 серпня 1950 р. у м.Дніпропетровську. В 1967 році закінчила середню школу №82 м.Дніпропетровська й вступила в Дніпропетровський державний університет на кафедру біофізики й біохімії, який закінчила в 1972 р. із червоним дипломом і була рекомендована в аспірантуру. В 1972-1976 рр. навчалася в аспірантурі при кафедрі біофізики й біохімії ДНУ. Після закінчення аспірантури, обрана асистентом цієї ж кафедри.

В 1979 р. захистила дисертацію «Катепсин В1 головного мозку в нормі й після рентгенівського опромінення» за фахом «біохімія», одержавши науковий ступінь кандидата біологічних наук. В 2001 р. захистила докторську дисертацію «Цистеїнові катепсини в умовах променевої поразки й злоякісного росту». З 1999 р. В.І. Чорна початку науковий співробітництво із Центральною науково-дослідною лабораторією Дніпропетровської державної медичної академії на посаді старшого наукового співробітника, а з 2002 р. – головного наукового співробітника.

Наукові інтереси В.І. Чорної лежать в галузі вивчення механізмів функціонування інтегративних функцій мозку, у першу чергу, пам'яті й способів фармакологічного керування ними в умовах патологічних розладів.

Чорна Валентина Іванівна автор більш 240 опублікованих робіт, у тому числі 7 навчальних і учбово-методичних посібників, 9 патентів України.

За роки роботи в ЦНДЛ було впроваджено в практику науково-дослідних робіт лабораторії імуноферментні методи кількісного визначення нейро-специфічних білків (NCAM, ГФКБ) і визначення активності лізосомних цистеїнових катепсинів В, L і Н.

Під керівництвом професора Чорної В.І. виконане й захищено 3 кандидатських дисертації (І.А. Лещинська, Т.І. Дука, О.Л. Ляная).

В 2002 році було зареєстровано наукове відкриття «Закономірність експресії нейроспецифічних білків у структурах головного мозку тварин при формуванні енграм пам'яті» (№190), у розробці якого брала участь головний науковий співробітник ЦНДЛ, професор Чорна В.І.

В 2007 році отриманий диплом №337 на наступне наукове відкриття (було логічним продовженням першого) «Закономірність зміни активності катепсину В, L, Н у структурах головного мозку тварин при формуванні енграм пам'яті».

Чорна В.І. нагороджена Почесною грамотою Міністерства освіти й науки України, знаком «Автор» і срібною медаллю ім. П.Л. Капіці.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 44124 (13) A

(51) B 6 A61B5/0484

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ОЦІНКИ ДИНАМІКИ ФОРМУВАННЯ УМОВНИХ РЕАКЦІЙ УНИКНЕННЯ ТВАРИНИ

1

(21) 2001053200

(22) 14 05 2001

(24) 15 01 2002

(46) 15 01 2002, Бюл. № 1, 2002р

(72) Дроздов Олексій Леонідович, Дзяк Людмила
Антонівна, Доронін Олександр Георгієвич, Зуб-
ковська Ганна Геннадіївна, Чорна Валентина
Іванівна(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА
АКАДЕМІЯ

2

(57) Спосіб функціональної оцінки динаміки формування умовних реакцій уникнення тварини, який містить здійснення візуальної реєстрації та хронометражу окремих компонентів поведінки тварини після початку навчання з кількісним визначенням експресії глікопротеїну NCAM шляхом твердофазного імуноферментного аналізу, який відрізняється тим, що кількісне визначення експресії глікопротеїну NCAM здійснюють в плазмі крові, пробу якої додатково відбирають під час вироблення умовного рефлексу

Винахід відноситься до медицини, а саме до визначення, виміру або реєстрації для діагностичних цілей, здебільшого з викликом відповідної реакції, і може бути використаний в невропатології, фармакології, в клінічній або теоретичній психології та інших галузях медицини

При експериментальному дослідженні структури та механізму функціонування процесів адаптивної поведінки, наприклад навчання та пам'яті, розкриття яких має велике значення в розвитку медицини, широко використовуються умовні реакції активного та пасивного уникнення тварини [1,2]

Відомий спосіб функціональної оцінки динаміки формування умовних реакцій активного уникнення (УРАУ) тварини, який містить здійснення візуальної реєстрації та хронометражу окремих компонентів поведінки тварини після початку навчання, як зовнішніх ознак її реакції [3]

Але, візуалізація окремих компонентів поведінки тварини позбавляє можливості отримувати кількісні оціночні характеристики, а хронометраж має суб'єктивний характер

Найбільш близьким об'єктом того ж функціонального призначення до заявленого винаходу, що збігається з ним за максимальною кількістю істотних ознак і технічною суттєвістю, є спосіб функціональної оцінки динаміки формування умовних реакцій уникнення тварини, який містить здійснення візуальної реєстрації та хронометражу окремих компонентів поведінки тварини після початку навчання з кількісним визначенням експресії глікопротеїну NCAM шляхом твердофазного

імуноферментного аналізу, у фронтальній зоні кори головного мозку та його підкоркових структурах [4]

Додаткове кількісне визначення експресії глікопротеїну NCAM (neural cell adhesion molecule - молекули адгезії нервових клітин) поряд з візуальною реєстрацією та хронометражем окремих компонентів поведінки тварини після початку навчання, забезпечує порівняння динаміки змін поведінки зі зміною вмісту білка, відповідального за процеси структурного синаптичного ремоделювання та аксонального зростання, і отримання відповідної оцінки ступеня участі окремих утворень головного мозку в процесі формування умовнорефлекторної реакції, а відтак - високу вродженість оцінки динаміки формування умовних реакцій уникнення тварини

Тож, враховування внутрішніх нейрохімічних змін, що відбуваються в організмі, зокрема в центральній нервовій системі, під час формування поведінкової реакції, значно поширює уявлення про стан постійних синаптичних зв'язків між структурами головного мозку за рахунок виділеної кількості глікопротеїну NCAM, що інформує про утворення міжнейронних контактів у мозку

До причини, що стримує отримання важливого технічного результату, належить необхідність виводу з експерименту значної кількості тварин у процесі формування УРАУ

Це зумовлено тим, що кількісне визначення експресії глікопротеїну NCAM здійснюється у фронтальній зоні кори головного мозку та його підкоркових структурах, тобто проводиться після забою щурів

В основу способу функціональної оцінки динаміки формування умовних реакцій уникнення тварини поставлена задача шляхом визначення зміни пам'ятного сліду в плазмі крові при формуванні умовнорефлекторної реакції, виключити забиття піддослідних тварин

Означений технічний результат досягається тим, що у відомому способі функціональної оцінки динаміки формування умовних реакцій уникнення тварини, який містить здійснення візуальної реєстрації та хронометражу окремих компонентів поведінки тварини після початку навчання з кількісним визначенням експресії глікопротеїну NCAM шляхом твердофазного імуноферментного аналізу, особливістю полягає в тому, що кількісне визначення експресії глікопротеїну NCAM здійснюють в плазмі крові, пробу якої додатково відбирають під час вироблення умовного рефлексу

Для виключення забиття піддослідних тварин оцінку динаміки змін кількості NCAM під час вироблення умовного рефлексу здійснюють не в структурах мозку, а в плазмі крові, що дозволяє враховувати як класичні критерії, тобто проводити візуальну реєстрацію та хронометраж окремих компонентів поведінки, так і показники змін концентрації нейроспецифічного глікопротеїну NCAM, не вдаючись до забиття піддослідних тварин

Це пояснюється тим, що на початковому періоді навчання тварини концентрація нейроспецифічного глікопротеїну NCAM змінюється не тільки у фронтальній корі та деяких підкоркових структурах головного мозку, але й у плазмі крові, внаслідок зв'язку між станом пам'ятного сліду та виділенням глікопротеїном, кількість якого можливо виміряти

Тож, сукупність відокремлюючих ознак способу є суттєвою, внаслідок наявності причинно-слідчого зв'язку з вищевизначеним технічним результатом

Відомості, що підтверджують можливість здійснення винаходу з отриманням вище-означеного технічного результату полягають в наступному

Характер поведінки тварин враховують за допомогою Y-подібного лабіринту з електрифікованою підлогою

Спосіб функціональної оцінки умовної реакції активного уникнення тварини здійснюють у наступній послідовності

За відомою методикою [3] виробляють умовну реакцію активного уникнення тварини, а через 2, 24 і 72 години, також через 3,7,14, 21 та 30 діб після початку навчання, враховують характер поведінки та визначають динаміку змін вмісту глікопротеїну NCAM у плазмі крові

Кількісне визначення вмісту глікопротеїну NCAM у плазмі крові проводять шляхом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням спектрофотометра для мікропланшет та буферного розчину, який містить 0,25 мМ Трис-HCl, 1 мМ EDTA, 2 мМ β -меркаптоетанолу, 0,2 мМ PMSF, 0,02% NaNO_3 , 2% Тритону X-100

Вміст глікопротеїну в плазмі крові визначають після кожного з досліджуваних інтервалів часу з точністю до $1,000 \pm 0,001$ мкг/мл При оцінці даних досліджень порівнюють кількість означеного глікопротеїну на різних етапах формування умовнорефлекторної реакції тварин та тварин контрольної групи

Для перевірки можливості рішення задачі та підтвердження досягнення технічного результату, що заявляється, проводили експеримент на дорослих білих щурах лінії Вістар масою 180-220 г (див. Табл. 1)

Наведені дані інформують про різке зменшення концентрації глікопротеїну NCAM в плазмі крові, в цей же час значно збільшується його кількість у фронтальній корі та деяких підкоркових структурах головного мозку, у початковому періоді навчання

Зв'язок між станом пам'ятного сліду, під час формування іншої умовнорефлекторної реакції, а саме умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ), та концентрацією нейроспецифічного глікопротеїну NCAM у плазмі крові щурів, виявлено в наступному експерименті

У дорослих білих щурів лінії Вістар масою 180-220 г в клітці з електрифікованою підлогою виробляли умовну реакцію пасивного уникнення, яку припинювали шляхом електрошокової амнезії Через відповідний час проводили тестування наявності УРПУ у дослідних тварин, за результатами якого виділяли групу щурів, у яких навичка УРПУ після електрошокової амнезії відновилася, а також групу, серед тварин якої означеного відновлення не спостерігалося Надалі порівнювали концентрацію глікопротеїну NCAM у плазмі крові тварин обох груп, що вимірювалася при дослідженнях Результати вимірювання наведені в Табл. 2

Отримані результати свідчать про те, що процес покращення відтворення пам'ятного сліду у амнезованих щурів супроводжується одночасним істотним зменшенням концентрації нейроспецифічного білку NCAM у плазмі крові на 41,3%

Корисність запропонованого способу функціональної оцінки реакцій уникнення додатково полягає в тому, що він надає можливість реєструвати не тільки зовнішні та поведінкові ознаки динаміки формування пам'ятного сліду умовнорефлекторних реакцій активного та пасивного уникнення, але й об'єктивно оцінювати нейрохімічний компонент цього процесу під час перебігу початкових етапів мнестичних реакцій, що в свою чергу дозволяє використати його, як тест у клінічній практиці Також застосування запропонованого рішення в лабораторних умовах дозволяє зменшити кількість тварин, що досліджуються, забезпечити гуманізацію умов проведення дослідів, а також зменшити їх собівартість

Джерела інформації

1. Brush F.R., Aversive Conditioning and Learning Academic Press, New York, 1971
2. Dickinson, A. Contemporary Animal Learning Theory Cambridge University Press, Cambridge, 1980
3. Буреш Я., Бурешова О. и Хьюстон П. Дж. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения «Высшая школа», Москва, 1991, стр. 175 - 209
4. Заяв №2000010208 України, МПК7 А 61 В 5/0484 Спосіб структурно-функціональної оцінки формування умовної реакції активного уникнення тварин / О.Л. Дроздов, Л.А. Дзяк та інші (Україна), - № 2000010208, заявл. 13.01.00 (на яку надано позитивне рішення)



УКРАЇНА

(19) UA (11) 44391 (13) A

(51) B 6 A61B5/0484

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ОЦІНКИ ФОРМУВАННЯ УМОВНОЇ РЕАКЦІЇ АКТИВНОГО УНИКНЕННЯ ТВАРИНИ

1

(21) 2000010208

(22) 13 01 2000

(24) 15 02 2002

(46) 15 02 2002, Бюл. № 2, 2002 р.

(72) Дроздов Олексій Леонідович, Дзяк Людмила Антонівна, Доронін Олександр Георгійович, Лециньська Ірина Олексіївна, Чорна Валентина Іванівна

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

2

(57) Спосіб структурно-функціональної оцінки формування умовної реакції активного уникнення тварини, що містить врахування характеру поведінки після початку навчання, який відрізняється тим, що додатково у фронтальній зоні кори головного мозку та його підкіркових структурах кількісно визначають експресію глікопротеїну NCAM шляхом твердофазного імуноферментного аналізу

Винахід відноситься до медицини, а саме до визначення, виміру або реєстрації для діагностичних цілей, здебільшого з викликом відповідної реакції, і може бути використаний в теоретичній або клінічній психології, невропатології та інших галузях медицини.

Відомо, що умовна реакція активного уникнення тварини є однією з характеристик, що використовуються при експериментальному дослідженні структури та механізму функціонування процесів адаптивної поведінки, навчання та пам'яті, розкриття яких уявляє велике значення в розвитку медицини [1,2,3,4,5].

Формування енграм пам'яті у процесі навчання припускає утворення нових постійних синаптичних зв'язків між структурами головного мозку, що беруть участь в реалізації поведінкового акту.

Поряд із цим, важливими структурними одиницями клітинних контактів є глікопротеїни. У головному мозку ідентифіковано декілька різноманітних молекул клітинної адгезії, у тому числі глікопротеїн NCAM, що обумовлює утворення контактів між клітинами ЦНС типу нейрон-нейрон, нейрон-матрикс тощо. Встановлена важлива роль NCAM у процесах, які зв'язані з інтегративною діяльністю мозку [6,7,8].

Разом із тим, з рівня техніки, що встановлений заявником, витікає, що способи структурно-функціональної оцінки формування умовної реакції активного уникнення тварини розроблені недостатньо, частіше згадується реакція активного уникнення тварини, як оціночний критерій адаптивної поведінки, навчання та пам'яті.

Так, відомий лише спосіб структурно-функціональної оцінки формування умовної ре-

акції активного уникнення тварини, що містить врахування характеру поведінки, візуальну реєстрацію та хронометраж окремих компонентів поведінки [9] – прототип.

До причин, що перешкоджають досягненню технічного результату, що заявляється, відносяться візуалізація компонентів поведінки та хронометраж його окремих компонентів.

Це пояснюється тим, що означена візуалізація позбавлена кількісних характеристик, а хронометраж носить суб'єктивний характер. Сукупність відомих приймачів значно знижує вірогідність критерію, який досліджується, а саме, оцінки реакції активного уникнення.

В основу вдосконалення відомого способу структурно-функціональної оцінки умовної реакції активного уникнення тварини поставлена задача підвищити вірогідність оціночного критерію шляхом реєстрації змін клітинних контактів головного мозку при використанні.

Означений технічний результат досягається тим, що у відомому способі структурно-функціональної оцінки формування умовної реакції активного уникнення тварини, що містить врахування характеру поведінки, особливість полягає в тому, що додатково в різноманітних структурах головного мозку кількісно визначають експресію глікопротеїну NCAM, при використанні.

Кількісне визначення експресії глікопротеїну NCAM, поряд з врахуванням характеру поведінки тварини, забезпечує можливість порівняння динаміки змін поведінки зі зміною вмісту білка, відповідального за процеси оцінки ступеня участі окремих утворень головного мозку в процесі формування умовно-рефлекторної реакції.

Таким чином, реєструючи зміни клітинних контактів головного мозку, заявник не виключаючи візуалізацію компонентів поведінки та хронометраж його окремих компонентів і забезпечує підвищення вірогідності оціночного критерію умовної реакції активного уникнення тварини

Відомості, які підтверджують можливість здійснення об'єкту, що заявляється, полягають у наступному

Врахування характеру поведінки виконують за допомогою Y-подібного лабіринту з електрифікованою підлогою

Для кількісного визначення експресії глікопротеїну NCAM не обхідні білі щури, здебільшого, самці лінії Вістар, як експериментальні тварини (в контрольній, навченій та ненавченій групах)

Крім того, для здійснення діагностики також потрібні центрифуга VAC 25, спектрофотометр для мікропланшетів

Спосіб структурно-функціональної оцінки умовної реакції активного уникнення тварини здійснюється наступним чином

По відомій методиці [9] спочатку виробляється умовна реакція активного уникнення тварини, а через 2, 24 і 72 години, після початку навчання, враховується характер поведінки та визначається динаміка змін вмісту глікопротеїну NCAM у фронтальній зоні кори головного мозку та в підкіркових структурах (смугому тілі, ядрах медіального таламусу, Варолієвому мосту та плокампі)

Кількісне визначення експресії глікопротеїну NCAM у згаданих структурах головного мозку знаходять шляхом твердофазного імуоферментного аналізу з використанням спектрофотометру для мікропланшетів у мембранних фракціях виділених структур головного мозку, які одержуються за допомогою ультрацентрифуги VAC 25 Мембранна фракція виготовляється на буферному розчині, який містить 0,25мМ Трис-HCl, 1мМ ЕДТА, 2мМ β-меркаптоетанол, 0,2мМ PMSF, 0,02% Na₂S₂O₅, 2% Тритон X-100

Після кожного з 3-х досліджуваних інтервалів, виявляють кількісний вміст глікопротеїну в тканині структур головного мозку, здійснюючи виміри з точністю до 1,000 ± 0,001мкг/мг При оцінці даних дослідження порівнюють кількість означеного глікопротеїну, виявлену у контрольних, навчених і ненавчених тварин

Для перевірки рішення задачі та підтвердження досягнення технічного результату, що заявляється, нами було проведено експеримент (див Табл)

На 3-х групах експериментальних тварин по відомій методиці [9] вироблялася умовна реакція активного уникнення тварини Через 2, 24 і 72 годин, після початку навчання у тварин визначали динаміку змін концентрації глікопротеїну NCAM у фронтальній корі головного мозку та підкіркових структурах (у тому числі в смугому тілі, ядрах медіального таламусу, Варолієвому мосту та плокампі) Експресію NCAM, на різних етапах формування умовної реакції активного уникнення (УРАУ) тварин, порівнювали з величиною досліджуваного показника, у контрольній, навченій і ненавченій групах тварин (див Табл)

Наведені результати показали, що вже через 2 години після початку навчання тварин, кількість глікопротеїну NCAM у корі головного мозку і підкіркових структурах збільшилася у 1,5 - 2,0 рази При подальшому навчанні тварин, на протязі 1 - 3 доби, кількість глікопротеїну у фронтальній корі головного мозку та у смугому тілі знизилася до рівня контролю, в той час як в медіальному таламусі його експресія зростала

Отже, виявлена закономірність змін концентрації глікопротеїну NCAM в різних структурах головного мозку тварини інформує про динаміку мікроструктурного забезпечення процесів формування пам'ятного сліду умовно-рефлекторної реакції активного уникнення та дає змогу оцінити про утворення нових клітинних контактів в умовах перебігу початкових етапів мнестичних реакцій

Таблиця
Експериментальні дані про структурно-функціональну оцінку формування умовної реакції активного уникнення тварини

Інтервали формування УРАУ	Фронтальна кора	Смугове тіло	Медіальний таламус
	NCAM, Мкг/тканини	NCAM, Мкг/тканини	NCAM, Мкг/тканини
Контроль	412,716 ± 19,644	408,088 ± 21,864	364,759 ± 19,066
Через 2 години	362,546 ± 4,977	365,544 ± 0,152	310,411 ± 11,373
Через 24 години	431,817 ± 23,289	472,178 ± 36,675	450,838 ± 35,153
Через 72 години	513,814 ± 19,059	539,479 ± 42,486	521,663 ± 44,653

Кошелев Олег Станіславович

Народився 22 березня 1967 року. В 1989 році поступив на підготовче відділення Дніпропетровського державного медичного інституту, а в 1996 році закінчив Дніпропетровську державну медичну академію.

В 1996 році був розподілений в Державний Фармакологічний Комітет МОЗ України, а далі Державний Фармакологічний Центр в якості провідного спеціаліста.

Одночасно за сумісництвом працював молодшим науковим співробітником в Центральній науково-дослідній лабораторії Дніпропетровській державній медичній академії, виконав та представив до захисту дисертаційну роботу за темою «Експериментальне обґрунтування використання похідних вазопресину для регуляції просторової пам'яті і функціонального стану гіпокампа» на здобуття ступеню кандидата медичних наук. Приймав участь в доклінічному вивченні гострої токсичності та специфічної активності 30 генеричних препаратів та підготовці 17 файлів нормативно-аналітичної документації для реєстрації у Державному Фармакологічному Центрі МОЗ України.

Автор – 60 наукових праць, серед яких учбово-методичних розробок – 4, співавтор – 3 монографій, 1 відкриття, 3 – авторських свідоцтв та – 12 патентів.

Нагороджений почесною медаллю ім. Л.П. Капіци Російської Академії Природничих наук за відкриття „Закономірність змін активності катепсинів В, L і Н в структурах головного мозку тварин при формуванні енграм пам'яті та нагрудним знаком «Творець» Міністерства освіти і науки України.

На даний час працює на науковому напрямку досліджень фармакологічної корекції розладів мнестичних процесів та визначенню якості і кількісного вмісту рослинної сировини в настоянках виробляємих підприємствами України.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 44397 (13) A

(51) B A61B5/00, A61B5/0476

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОЇ ОЦІНКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

1

(21) 2000021048

(22) 23 02 2000

(24) 15 02 2002

(46) 15 02 2002, Бюл. № 2, 2002 р.

(72) Дзяк Людмила Антонівна, Дроздов Олексій Леонідович, Доронін Олександр Георгієвич, Кошелев Олег Станіславович, Мізякіна Катерина Васильовна

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

(57) 1 Спосіб кількісної оцінки функціонального стану головного мозку, що включає вимір параметрів стану й суміщену з ним оцінку біоелектричної активності мозку по частоті й

2

амплітуді потенціалів, що реєструються, який відрізняється тим, що додатково визначають сумарну біоелектричну активність мозку шляхом її аналогового або цифрового фільтрування, яку поділяють щонайменше на 5 частотних піддіапазонів, в межах кожного з яких визначають щільність спектрів потужності, частотну й амплітудну характеристики

2 Спосіб кількісної оцінки функціонального стану головного мозку за п. 1, який відрізняється тим, що частотні піддіапазони відповідають піддіапазонам альфа, бета-1, бета-2, тета - дельта - ритмів.

Винахід відноситься до медицини, а саме, до визначення і виміру при реєстрації біоелектричних сигналів частин організму, також до енцефалографії, і може бути використаний в нейрофізіології, здебільшого при вивченні біоелектричної активності кори головного мозку і його утворень

Відомі способи кількісної оцінки функціонального стану головного мозку, що включають вимір параметрів стану і оцінку біоелектричної активності мозку та його структур по частоті та амплітуді потенціалів, що реєструються, з використанням алгоритмів обчислення даних по різноманітним критеріям, наприклад по даним когерентності або спектрів потужності, часової або топографічної симетрії біоелектричних явищ [1,2,3]

Загальним недоліком відомих способів є низька вірогідність цих результатів. Це обумовлено проведенням візуальної ідентифікації та наявності помилок виміру даних, а також великим інтервалом часу між моментом реєстрації вхідних показників і завершенням отримання оціночних даних або характеристик

Найбільш близьким по технічній суттєвості й досягаемому результату до способу, що заявляється є спосіб кількісної оцінки функціонального стану головного мозку, що містить вимір параметрів стану й суміщену з ним

оцінку біоелектричної активності мозку по частоті й амплітуді потенціалів, що реєструються, в якому визначення частоти здійснюють за даними спектрального аналізу, а амплітуди - по щільності спектру потужності сигналу [4]. Суміщення результатів реєстрації вхідних показників і оціночних даних шляхом динамічної обробки даних декілька підвищує вірогідність і скорочує час отримання цього результату

Однак, визначення частоти та амплітуди коливань біопотенціалів мозку, що носить в значній мірі властивості стаціонарного випадкового процесу, за даними показників спектральної потужності, отриманих у відносно широкому інтервалі частот, істотно обмежує підвищення вірогідності очікуємих кінцевих результатів [5,6]

До основи вдосконалення відомого способу кількісної оцінки функціонального стану головного мозку поставлена задача подальшого підвищення вірогідності кінцевого результату за рахунок поліпшення точності виміру амплітуди й частоти коливань біопотенціалів головного мозку під час їх реєстрації

Означений технічний результат досягається тим, що при здійсненні відомого способу кількісної оцінки функціонального стану головного мозку, що містить вимір параметрів стану й суміщену з ним оцінку біоелектричної

активності мозку по частоті й амплітуді потенціалів, що реєструються, згідно з пропозицією, додатково визначають сумарну біоелектричну активність мозку шляхом одночасним її аналогового або цифрового фільтрування, яку поділяють щонайменше на 5 частотних піддіапазонів, в межах кожного з яких визначають щільність спектрів потужності, частотну й амплітудну характеристики, за умовою, що частотні піддіапазони відповідають піддіапазонам альфа-, бета-1, бета-2, тета- й дельта- ритмів

Аналогове або цифрове фільтрування сприяє поділу широкосмугової сумарної біоелектричної активності на більш вузькі ідентифікаційні фрагменти, дозволяє усунути фізичний шум гармонік та пересунути контрольовані параметри до області більш вірогідних значень. Разом із тим, визначення амплітуди сигналів по щільності спектрів потужності у вузьких частотних діапазонах виключає вплив систематичних помилок, що з'являються в спектрах потужності сумарного сигналу від генерації домінуючою частотою паразитних гармонійних коливань. Що стосується аналогового або цифрового фільтрування, завдяки якому біоелектричну активність поділяють щонайменше на 5 частотних піддіапазонів, то цим лише уточнюються умови реєстрації означених ритмів без надання самостійного правового значення. При цьому, використання частотних піддіапазонів у кількості менш за 5 недоцільно, бо контрольовані параметри при цьому пересуваються до області менш вірогідних даних.

Сукупність відзнак, що пропонується значно покращує точність реєстрації амплітуди та частоти коливань біопотенціалів головного мозку і в зв'язку з цим забезпечує підвищення достовірності очікуваного кінцевого результату при використанні.

Отже, сукупність запропонованих відзнак є істотною, оскільки має причинно-наслідковий зв'язок з важливим технічним результатом.

Поряд із цим, зіставлення істотних відокремлюваних ознак об'єкту, що заявляється з прикметами прототипу інформує про їхню відповідність умови винаходу "новизна".

Рішення задачі, що заявляється, також відповідає критерію "винахідницький рівень", оскільки відомостей відносно використання ознак, еквівалентних або тотожних до заявляємої та зв'язаних з аналогічними перетвореннями технічного результату, заявником не встановлено.

Відомості, що підтверджують можливість здійснення об'єкта, про який йдеться, з отриманням означеного вище технічного результату, полягають в наступному.

Для кількісної оцінки функціонального стану головного мозку використовувались білі щурини Вістар, відомий фармакологічний препарат, наприклад тіопентал-натрій, як наркозний засіб, відповідно, аналоговий аналізатор типу MB- 5202 і зв'язаний з ним комп'ютер класу IBM - 486 з відповідним апаратним і програмним забезпеченням. Тіопентал – натрій вводився

внутрішньобрюшинно в дозі 50 мг/кг. Сумарна біоелектрична активність аналоговою аналізатором поділялася на 5 частотних піддіапазонів (β_1) 1,5 - 3,0, (β_2) 4,0-7,0, (α) 8,0-13,0, (γ) 14,0-20,0, і (σ) 21,0-30,0 Гц.

Використання фармакологічного аналізу дозволяло модифікувати функціональний стан головного мозку тварин і, відповідно, характер його біоелектричної активності, що реєструвався як в стані іммобілізаційного стресу, так і в стані наркозу.

Після інекції препарату вимірювали параметри стану головного мозку шляхом реєстрації біоелектричних потенціалів, що відводилися з проекції фронтальної зони кори головного мозку. Потенціали у вигляді біоелектричних сигналів подавалися до входу широкосмугового багатоканального підсилювача біоелектричних потенціалів, надалі – на аналоговий фільтр аналізатора, де вони розподілялися на частотні піддіапазони, відповідно областям альфа-, бета-1, бета-2, тета- й дельта- ритмів та перетворювалися у цифрову форму, надходили до комп'ютера, де вмонтованим програмним модулем оброблялись за алгоритмом швидкого перетворення Фур'є, обчислювались спектри потужності, визначались і виводилися на периферійні прилади амплітудні та частотні характеристики поточної біоелектричної активності фронтальної зони кори головного мозку. Водночас на діаграмній стрічці реєструвалася сумарна електроенцефалограма (ЕЕГ) та результати її розкладу на аналоговому аналізаторі, що дозволяло у подальшому порівнювати амплітуди коливань контрольованих біопотенціалів, здобутих прямим вимірюванням, з даних вимірів, отриманих як по спектру потужності сумарної біоелектричної активності, так і по спектрам потужності окремих частотних піддіапазонів.

Для порівняння результатів оцінювали амплітуди хвильової активності головного мозку, визначеної по різноманітним методикам. Було проведено 20 експериментів на білих щурах, що знаходилися в станах іммобілізаційного стресу та наркозу, викликаного введенням розчину тіопентала-натрію в дозі 50 мг/кг.

Порівнювалася середня амплітуда коливань біопотенціалів в діапазонах 1,5-3,0, 4,0-7,0, 8,0-13,0, 14,0-20,0, та 21,0-30,0 Гц. По результатам прямого виміру на сумарній електроенцефалограмі після візуальної ідентифікації, прямого виміру амплітуди коливань, аналогового фільтрування останніх та реєстрації на діаграмній стрічці, здійснювали комп'ютерні виміри з обчисленням даних, що складалися по спектру потужності сумарної біоелектричної активності.

Результати проведених досліджень надані в таблицях № 1 та № 2, в яких відбиті амплітуди коливань біопотенціалів головного мозку у білих щурів у стані іммобілізаційного стресу та наркозу, що були отримані по різноманітним методикам.

В умовах іммобілізаційного стресу тварини виявляли ознаки рухового збудження, їхня ЕЕГ характеризувався домінуванням

високочастотних коливань, на фоні яких періодично спостерігалися групи альфа-подібних хвиль (Таблиця №1). Усереднений спектр потужності ЕЕГ і відповідна йому амплітудна характеристика мали вигляд положистої кривої з максимумом на частоті 22,5 Гц, чому відповідала амплітуда коливань 18,4 мкВ. Максимум амплітуди коливань після аналогового фільтрування пересувався до області частот від 17,5 до 19,2 Гц і складав біля 28,6 мкВ як при прямому вимірі, так і при спектральному аналізі.

На ЕЕГ тварин, які перебували у стані наркозу, переважно відчувалися високоамплітудні низькочастотні коливання потенціалу типу дельта- і тета-хвиль, модульовані високочастотними коливаннями (Таблиця №2). Усереднений спектр потужності ЕЕГ мав вигляд двогорбої кривої з максимумами на частотах 1,2 Гц і 4,1 Гц при амплітудах відповідно 173 та 96 мкВ. Амплітуди коливань, що визначались по спектрах потужності після аналогового фільтрування, складали 262 мкВ на частоті 2,4 та 161 мкВ на частоті 6,25 Гц. Амплітудні характеристики коливань

біопотенціалів сумарної ЕЕГ, що отримувалися шляхом проведення прямих вимірів, істотно не відрізнялися від значень, зареєстрованих по спектрах потужності в означених діапазонах.

Отримані результати показали, що амплітуда коливань потенціалів головного мозку, що визначається шляхом прямих вимірів на діаграмній смужці, відрізняється від величин, одержуваних шляхом розрахунків по спектру потужності сумарної електроенцефалограми. Це пов'язане з тим, що по відношенню до домінуючої частоти коливань інші частоти, що виступають в ролі шуму, призводять до змищення спектру потужності і появи істотних помилок.

Отже, спосіб кількісної оцінки функціонального стану головного мозку, що пропонується, полягає в спектральному аналізі не сумарної біоелектричної активності, а в аналізі її вузьких частотних смуг, заздалегідь виділених шляхом аналогового фільтрування, що зміщує спектральні характеристики до області більш вірогідних даних та, підвищує точність виміру амплітуди коливань біопотенціалів головного мозку на 20-30%.

Таблиця № 1

Амплітуда коливань ЕЕГ білих щурів в стані іммобілізаційного стресу, мкВ

№ п/п	Діапазон частот, Гц	Об'єкт та метод вимірювання амплітуди	
		ЕЕГ після аналогової фільтрації прямий вимір	ЕЕГ сумарна, спектр потужності комп'ютерні технології
1	1,5 - 3,0		
2	4,0 - 7,0		
3	8,0 - 13,0		
4	14,0 - 20,0	27,3	28,6
5	21,0 - 30,0		24,4

Таблиця № 2

Амплітуда коливань ЕЕГ білих щурів в стані наркозу, мкВ

№, п/п	Діапазон частот, Гц	Об'єкт та метод вимірювання амплітуди		
		ЕЕГ після аналогової фільтрації прямий вимір	ЕЕГ сумарна, спектр потужності комп'ютерні технології	
1	1,5 - 3,0	251	262	173
2	4,0 - 7,0	156	161	96
3	8,0 - 13,0			
4	14,0 - 20,0			
5	21,0 - 30,0			



УКРАЇНА

(19) UA (11) 44400 (13) A

(51) B A61B5/0484, G01N33/50

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ОЦІНКИ ФОРМУВАННЯ УМОВНОЇ РЕАКЦІЇ АКТИВНОГО УНИКНЕННЯ ТВАРИНИ

1

2

(21) 2000031752

(22) 28 03 2000

(24) 15 02 2002

(46) 15 02 2002, Бюл. № 2, 2002 р

(72) Дроздов Олексій Леонідович, Дзяк Людмила
Антонівна, Дука Тетяна Іванівна, Чорна Валентина
Іванівна

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА
АКАДЕМІЯ

(57) Спосіб структурно-функціональної оцінки формування умовної реакції активного уникнення тварини, що містить утворення умовної реакції тварини та наступну реєстрацію оціночних критеріїв, який відрізняється тим, що у фронтальній зоні кори головного мозку та його підкоркових структурах реєструють кількість виділення гліального фібрилярного кислого білка, як оціночного критерію, шляхом твердофазного імуноферментного визначення

Винахід відноситься до медицини, а саме до визначення, виміру або реєстрації з діагностичною ціллю, здебільшого з викликом відповідної реакції, і може бути використаним в теоретичній або клінічній психології, невропатології та інших галузях медицини

Відомо, що умовна реакція активного уникнення тварини є одним з показників, що використовуються при експериментальному дослідженні структури та механізму функціонування процесів навчання та пам'яті, розкриття яких має істотне значення для розвитку сучасної медицини [1,2,3,4,5]

Формування енграм пам'яті у процесі навчання тварин, вірогідно, призводить до утворення нових синаптичних зв'язків між структурами головного мозку, що беруть участь в реалізації поведінкового акту. Значну роль в процесах консолідації, збереження та відтворення енграм пам'яті виконують клітини астроцитарної глії [6,7]. До складу протеїнового цитоскелету, що обумовлює форму, обсяг клітин і стан їхньої поверхневої мембрани, входить глікопротеїн, наприклад гліальний кислий фібрилярний білок (ГФКБ) проміжних філаментів астроцитів [8,9,10,11,12]. Встановлена істотна роль (ГФКБ) в нейрон - гліальних взаємодіях [13], який необхідний для засвоєння рухових навичок [14] і змінює свої показники в крові при хворобі Альцгеймера [15]

Разом із тим, рівень техніки, що встановлений заявником, інформує про те, що ГФКБ, як контролюємий кількісний параметр, у способах структур-

но-функціональної оцінки формування умовної реакції активного уникнення тварини не використовувався

Найбільш приближеним по кількості істотних ознак до об'єкта, що заявляється є спосіб структурно-функціональної оцінки формування умовної реакції активного уникнення тварини, що містить утворення умовної реакції тварини та наступну реєстрацію оціночних критеріїв, наприклад, окремих елементів поведінки шляхом їх хронометражу та візуалізації [16]

Але, візуалізація складових поведінки позбавляє спосіб кількісних характеристик, а хронометраж має суб'єктивний характер, що знижує вірогідність оцінки реакції активного уникнення

До основи вдосконалення відомого способу структурно-функціональної оцінки формування умовної реакції активного уникнення тварини поставлена задача підвищити вірогідність оціночного критерію шляхом визначення кількості глікопротеїну у структурах головного мозку при використанні

Означений технічний результат досягається тим, що у відомому способі структурно-функціональної оцінки формування умовної реакції активного уникнення тварини, що містить утворення умовної реакції тварини та наступну реєстрацію оціночних критеріїв, особливістю полягає в тому, що у фронтальній зоні кори головного мозку та його підкоркових структурах реєструють кількість виділення гліального фібрилярного кислого білка, як оціночного критерію, шляхом твердофазного імуноферментного визначення

Заявником встановлено, що причиною підвищення технічного результату є наявність взаємозв'язку між формуванням умовної реакції тварини та участю ГФКБ в утворенні структурних елементів цитоскелету астроглії головного мозку після початку навчання, або зміною кількості генеруємого глікопротеїну до відповідних умовних реакцій тварини

Кількісне визначення вмісту ГФКБ після вироблення умовної нолу, 0,2 мМ PMSF, 0,02% NaNO₃, 2% Трилону X-100

Після кожного з 3-х досліджуваних інтервалів виявляють кількісний вміст глікопротеїну в тканинах структур головного мозку, здійснюючи виміри з точністю до 1,000 ± 0,001 мкг/мг. При оцінці даних дослідження порівнюють кількість означеного глікопротеїну, виявлену у контрольних та навчених тварин

Для перевірки рішення задачі та підтвердження досягнення технічного результату, що заявляється, нами було проведено експеримент (див Табл 1)

На 3-х групах експериментальних тварин за відомою методикою [16] вироблялася умовна реакція активного уникнення тварини. Через 2, 24 і 72 години після початку навчання у тварин визначали динаміку змін концентрації глікопротеїну у фронтальній корі головного мозку та підкоркових структурах. Експресію ГФКБ на різних етапах формування умовної реакції активного уникнення (УРАУ) тварин, порівнювали з величиною досліджуваного показника у контрольній групі

Наведені результати показали, що вже через 2 години після початку навчання тварин, кількість глікопротеїну у корі головного мозку та деяких підкоркових структурах (медіальному таламусі та Варолієвому мості) збільшилася у 1,5 рази. Через добу кількість глікопротеїну у означених структурах мозку досягла максимального значення. При подальшому навчанні тварин вміст ГФКБ у фронтальній корі головного мозку, таламусі та Варолієвому мості знизився до рівня контролю, в той час як в дорзальному гіпокампі його експресія почала збільшуватись. Така послідовність зміни вмісту ГФКБ свідчить, що початкову стадію процесу формування УРАУ підтримує, переважно підвищення активності кори головного мозку, медіального таламусу та Варолієвого моста, а у подальшому - структур гіпокампу

Отже, виявлена закономірність змін концентрації ГФКБ в різних реакції тварини, дає можливість оцінити ступінь та тривалість участі окремих утворень головного мозку в процесі формування умовно-рефлекторної реакції

Таким чином, реєструючи чисельні зміни експресії глікопротеїну, заявник забезпечує підвищення вірогідності оціночного критерію умовної реакції активного уникнення тварини

Відомості, які підтверджують можливість здійснення об'єкту, що заявляється, полягають у наступному

В Y-подібному лабіринті з електрифікованою підлогою під час формування енграм умовно-рефлекторної реакції уникнення, для кількісного визначення вмісту ГФКБ використовували білих щурів-самців лінії Вістар, як експериментальних тварин

(в контрольній та навченій групах). Крім того, для здійснення діагностики потрібні спектрофотометр для мікропланшетів та центрифуга VAC 25

Спосіб структурно-функціональної оцінки умовної реакції активного уникнення тварини здійснюється наступним чином

За відомою методикою [16] виробляють умовну реакцію активного уникнення тварини, а через 2, 24 і 72 години, після початку навчання, враховують характер поведінки та визначають динаміку змін вмісту гліко-протеїну у фронтальній зоні кори головного мозку та в підкоркових структурах (сму-гастому тілі, ядрах медіального таламусу, Варолієвому мості та гіпокампі)

Кількісне визначення вмісту ГФКБ у згаданих структурах головного мозку знаходять шляхом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням спектрофотометра для мікропланшетів у мембранних фракціях виділених структур головного мозку, які одержуються за допомогою ультрацентрифуги VAC 25. Мембранна фракція виготовляється на буферному розчині, який містить 0,25мМ Трис-HCl, 1мМ EDTA, 2мМ β-меркаптоетан-2-тиолу. Структури головного мозку тварини свідчать про динаміку структурного забезпечення процесів формування енграм умовно-рефлекторної реакції активного уникнення та дає змогу оцінити значення умов, які сприяють утворенню нових нервових зв'язків на початкових етапах мнестичних процесів

Джерела інформації

1. Herrnstein, R J. Method and theory in the study of avoidance. *Psychol Rev*, 1969, p 49-69
2. Brush, F R, *Aversive Conditioning and Learning*. Academic Press, New York, 1971
3. Dickinson, A. *Contemporary Animal Learning Theory*. Cambridge University Press, Cambridge, 1980
4. D'Amato, M R. *Experimental Psychology: Methodology, Psychophysics and Learning*. McGraw-Hill, New York, 1970
5. Rachlin, H. *Behavior and Learning*. Freeman, San Francisco CA, 1976
6. Ройтбак А.И. Нейроглия и образование новых нервных связей в коре мозга - В кн. Механизмы формирования и торможения условных рефлексов. М. Наука, 1973, с. 82-94
7. Ройтбак А.И. Физиология нейроглии - В кн. Руководство по физиологии. Общая физиология нервной системы. Л. Наука, 1979, с. 607-702
8. Mitchison T J. Evolution of a dynamic cytoskeleton. *Phil Trans of the Royal Soc of London-Series B Biological Sci* - 1995 - V 349 - p 299 - 304
9. Fuchs E, Weber K. Intermediate filament structure, dynamics, function and disease // *Ann Rev Biochem* - 1994 - V 63 - p 345 - 382
10. Lendahl U, Zimmerman L B, McKay R D G. CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein // *Cell* - 1990 - V 60 - p 585 - 595
11. Osborn M, Weber K. Intermediate filament proteins: a multiple family distinguishing major cell lineages // *Trends Biochem Sci* 1986 - V 11 - p 469 - 471
12. Eng L F. GFAP: the major protein of glial intermediate filaments in differentiated astrocytes

Зорін Андрій Нікітич

Професор, доктор технічних наук, Лауреат Державної премії, Заслужений винахідник України, Почесний професор НГА України, Академік АІН України, АЕН Російської Федерації, Почесний професор медицини, голова експертної ради Міжнародної Асоціації авторів наукових відкриттів.

Зорін Андрій Нікітич народився 23 серпня 1933 року в с. Мішурин Ріг Дніпропетровської області. Випускник НГУ за фахом «гірський інженер – маркшейдер» 1958 року. Працював завідувачем відділу Інституту геотехнічної механіки НАН України.

Визнаний гідним орденів «Шахтарська слава» I, II, III ступені, медалі «За доблесну працю», бронзової медалі «За досягнуті успіхи в розвитку народного господарства СРСР», медалі «За заслуги в справі винахідництва», медалі Петра I, медалі «За розвиток медицини й охорони здоров'я», і т.д.

Зорін А.Н. є автором 9 наукових відкриттів, 170 винаходів, 23 монографій, більш 330 наукових праць – він визнано одним з найбільше інтелектуально багатих людей України й СНД.

Глибокі знання технічних дисциплін, висока творча активність дозволяли Зоріну А.Н. плідно трудитися на стику наук, екстраполюючи фізичні закони на біологічні об'єкти. Завдяки тісному співробітництву з такими видатними вченими – медиками, як Г.В.Дзяк, О.В. Люлько, О.Л.Дроздів, С.А. Мунтян, С.І.Баранник і ін. у медичній галузі були зроблено 3 відкриття («Закономірність зміни в'язкості літогенної жовчі ссавців під впливом ультразвуку»; «Властивість бішофіту пригнічувати ріст і розмноження патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів»; «Властивість каменів бруньок як біологічних об'єктів проявляти пружнов'язкопластичні деформації»), 36 винаходів, видано 4 монографії, більш 40 наукових праць.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 44442 (13) A

(51) B A61K33/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ПРОТИЗАПАЛЬНИЙ ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ

1

2

(21) 2001021040

(22) 14 02 2001

(24) 15 02 2002

(46) 15 02 2002, Бюл. № 2, 2002 р.

(72) Дзяк Георгій Вікторович, Дроздов Олексій Леонідович, Зорін Одрій Микитович, Головкин В'ячеслав Олександрович, Холод Борис Іванович, Істомін Віктор Петрович

(73) Дзяк Георгій Вікторович

(57) Протизапальний лікарський засіб, що містить водорозчинні сполуки $MgCl_2$, $CaSO_4$, KCl і Fe , який відрізняється тим, що додатково містить водо-розчинні сполуки Cu , Mn , Cd , Al , Zn при наступному співвідношенні, у мас. %

$MgCl_2$	35,9-36,2
KCl	0,29-0,31
$CaSO_4$	0,04-0,05
Fe	0,0120-0,0130
Al	0,00025-0,00030
Mn	0,00003-0,00004
Zn	0,000022-0,000059
Cu	0,0000030-0,0000042
Cd	0,0000015-0,0000031
вода	решта

Винахід відноситься до медицини, а саме до ліків і медикаментів для терапевтичних цілей, переважно до препаратів, що містять неорганічні активні інгредієнти та може бути використаним для терапії запальних процесів, як засіб зовнішнього впливу.

Відомі протизапальні засоби стероїдної (кортизон, преднізолон, дексаметазон) та нестероїдної структур (аспирин, парацетамол, ібупрофен, вольтарен, мефенамова кислота тощо) [1].

Але, тривале використання вище згаданих препаратів досить часто викликає розвиток побічних ускладнень систем травлення, кровопостачання, кровотворення, особливо, імунної, обмінних процесів тощо, внаслідок їх внутрішнього чи парентального вживання [2].

Існують також протизапальні препарати локальної дії, що містять солі металів, таких як сульфати цинку, міді, нітрат срібла, гідроокисли алюмінію та багатьох інших [1,3], локальна дія яких дещо обмежує загальний вплив на вищезначені органи та системи.

Найбільш близьким об'єктом по сукупності істотних ознак до винаходу, що заявляється, є протизапальний лікарський засіб, що містить водорозчинні сполуки $MgCl_2$, $CaSO_4$, KCl і Fe , а окрім них, ще й сполуки B , Li , Ni тощо [2].

Вищенаведений протизапальний лікарський засіб, який відомий як «Polyminerol» («Pharmachim», Болгарія) являє стандартизований колоїдний розчин природних щолоків Поморійсько-

го озера, що знайшов переважливе розповсюдження в стоматологічній практиці, внаслідок протизапально-анальгуючої та фагоцитозної активності комплексу водорозчинних сполук.

Проте, наявність алергенності з боку водорозчинних сполук відомого засобу, внаслідок їх не досить збалансованого складу та критичного стану до резистентності щільних білкових тканин, стримує посилення протизапальних властивостей, і являє причину, що стримує досягнення очікуваного технічного результату. Наявність B , Li та Ni не впливає на стабілізацію запальних процесів.

Між тим, необхідність імпорту сировини, як і готового лікарського засобу, обмежують можливість випуску препарату національною фармакологічною промисловістю разом із використанням.

До основи винаходу поставлено задачу розробити такий протизапальний лікарський засіб, який шляхом штучного покращення селекції водорозчинних сполук за рахунок вживання сировини місцевого походження підвищує протизапальні властивості при використанні.

Означений вище технічний результат досягається тим, що у відомому протизапальному лікарському засобі, що містить водорозчинні сполуки $MgCl_2$, $CaSO_4$, KCl і Fe , згідно з винаходом, додатково утримує водорозчинні сполуки Cu , Mn , Cd , Al , Zn , при наступному співвідношенні, у мас. %

$MgCl_2$	35,9 - 36,2
KCl	0,29 - 0,31
$CaSO_4$	0,04 - 0,05

Fe	0,0120 - 0,0130
Al	0,00025 - 0,00030
Mn	0,00003 - 0,00004
Zn	0,000022 - 0,000059
Cu	0,0000030 - 0,0000042
Cd	0,0000015 - 0,0000031
Вода	решта

Додані в препарат водорозчинні сполуки Cu, Mn, Cd, Al, Zn у сукупності з відомими істотно поліпшують його локальну протизапальну дію, внаслідок притаманної ним в'язучої біологічної активності. На відміну від прототипу, покращення протизапальних властивостей препарату складається із здатності доданих сполук утворювати органічні поєднання з альбумінами, як білками тканини, з запаленнями більш глибокої дислокації за рахунок утворення менш щільних альбумінатів.

Кількісні співвідношення кожної з доданих водорозчинних інгредієнтних сполук вважаються оптимальною, бо використання менших концентрацій означених елементів в них є критичним до протизапальних властивостей запропонованого засобу, а збільшення їхнього вмісту викликає ознаки шкіряно-подразнювальної дії, як складової загального терапевтичного ефекту.

Отже, кожна з доданих водорозчинних інгредієнтних сполук у заявленій кількості у сукупності з відомими є істотною, бо має зв'язок з технічним результатом.

Відомості, що підтверджують можливість використання протизапального лікарського засобу полягають в наступному:

Для виготовлення препарату можливо залучення місцевих сировинних ресурсів, що виробляє хімічна та приборо-збагачувальна промисловість.

При використанні винаходу для забезпечення мінімального технічного результату водорозчинні сполуки з вмістом запропонованих хімічних елементів поєднують у лікарську форму, при наступному співвідношенні, у мас %:

MgCl ₂	35,9 - 36,2
KCl	0,29 - 0,31
CaSO ₄	0,04 - 0,05
Fe	0,0120 - 0,0130
Al	0,00025 - 0,00030
Mn	0,00003 - 0,00004
Zn	0,000022 - 0,000059
Cu	0,0000030 - 0,0000042
Cd	0,0000015 - 0,0000031
Вода	решта

звичайним перемішуванням, витримують на протязі доби при кімнатній температурі та фасують у пляшки після фільтрують суміші на промисловій установці.

Лікарська форма протизапального лікарського засобу, що заявляється, виконується у вигляді розчину заданої концентрації, що розфасовується у склянки і призначена для зовнішнього вживання. Лікування запальних захворювань із залученням запропонованого препарату найбільш доцільна за умовами теплотерапевтичної або електрофоретичної методики, під наглядом лікаря.

На погляд заявника, запропонований лікувальний засіб може знайти використання при лікуванні артритів, радикулітів, міозитів, гіпертонічної хвороби, ангіопатії та облітеруючих захворювань

на нижні кінцівки, деяких запальних захворювань шкіри тощо, у вигляді засобу зовнішнього місцевого впливу.

Приклад. Для виготовлення препарату використали лабораторні сировинні ресурси Водорозчинні сполуки, що утримували терапевтичне сприйнятливий кількість означених елементів отримували за технологією «pow-how» заявника. Суміш поєднували, центрифугували, витримували на протязі доби при T 20°C і після фільтрації фасували у пляшки.

До складу водорозчинних сполук вміщували запропоновані інгредієнти, при наступному співвідношенні мас %:

MgCl ₂	36,1
KCl	0,3
CaSO ₄	0,04
Fe	0,012
Al	0,00028
Mn	0,00003
Zn	0,00005
Cu	0,000003
Cd	0,000003
Вода	решта

Концентрація в суміші макро- та мікроелементів мінеральних солей протизапальної дії сягала понад 36,5%. Для зменшення концентрації активної частини рідини використовували воду дистильовану.

Оцінка протизапальної дії препарату відбувалася на підставі аналізу експериментальних результатів, що були отримані після впливу ним на білих статевозрілих щурів лінії Вістар, з використанням моделі запального ефекту кінцівки, викликаного субплантарним введенням 2% розчину формальдегіду [4,5]. Запальна реакція визначалась по розміру пухлин та ступеню гіпертермії шкіряних поверхонь кінцівок, а також по загальному стану тварин, які фіксувалися через кожні 30,60,90,120,150 і 180 хвилин після ін'єкції. У Таблиці №1 надані зміни обсягу задньої кінцівки щура після введення 2% розчину формальдегіду.

На кінець першої години після нанесення досліджуваного розчину мінеральних солей, на тлі раніше змодельованого запалення, було зафіксовано зменшення запалення та гіпертермії кінцівки. Одночасно встановлено поліпшення загального стану тварин зменшення інтенсивності вокалізації, агресивності, рухового збудження.

По зовнішнім ознакам, через 90 хвилин після початку використання досліджуваного засобу визначились запалення та обсяг кінцівки істотно зменшилися у порівнянні з контролем, зафіксовано зменшення інтенсивності гіперемії шкіряних поверхонь (Таблиця №2).

На завершення 180-ї хвилини після ін'єкції формальдегіду, досліджуваній комплекс мінеральних солей у вигляді суспензії накладали на запалені кінцівки щурів, що були іммобілізовані у домівках з вільним підступом до останніх. Уражені кінцівки контрольних тварин покривали ізотонічним розчином хлористого натрію. Після кожного виміру обсягів кінцівок проводили повторне нанесення суспензії та ізотонічного розчину та вивчали протизапальність ефекту по означеним вище критеріям.

На протязі 3 часу спостережень загальний

стан тварин практично нормалізувався і суттєво не відрізнявся від стану тварин контрольної групи. Розмір ураженої поверхні кінцівок достовірно зменшився та набув тенденції до подальшого зниження. На 5 годину після нанесення на кінцівку запропонованого мінерального комплексу зменшення обсягу кінцівки сягало 18,2 % ($P < 0,05$) у порівнянні з вихідним станом.

Отже, при місцевому вживанні протизапального лікарського засобу на протязі 5 годин відстежується виражливий місцевий протизапальний ефект.

Для вибору оптимальної концентрації препарату на експериментальній моделі запалення у щурів було проведено порівняльне дослідження розчинів різної концентрації (Таблиця № 3). Як інформують спостереження, аплікації розчинами протизапального лікарського засобу, що заявляється, можуть викликати різні ступені зменшення запалення.

Разом із цим, при використанні пропонуємої концентрації складових у частини експериментальних тварин відстежувались ознаки шкіряно-подразнювальної дії, частота появи яких збільшувалась адекватно до подальшого підвищення концентрації компонентів розчину.

На моделі експериментального запалення для поглиблення уяви про механізми протизапального ефекту засобу, що заявляється, додатково проведено дослідження впливу з боку препарату на структуру шкіри. Після субплантарного введення формальдегду поряд з макроскопічними (гіперемія, ппертермія в області ін'єкції, набряк) відстежувались мікроскопічні зміни. Вони визначались, переважно, в усіх шарах шкіри в епідермісі (на завершення 2 години після ін'єкції формальдегду), базальному та частково у шиповатому шарі, та супроводжувались появою вакуольної дистрофії епідермоцитів та спонгозису. Аплікація пропонуєним розчином по раніше визначеній методиці викликала суттєві зміни в усіх шарах шкіри. В епідермісі після використання досліджуваної лікарської форми знижувалась ступінь вакуольної дистрофії та спонгозису перинуклеарні набряки зустрічались в окремих клітинах та були виражені в значно меншому ступені, щілини між епідермоцитами були практично відсутніми, що свідчило про інтенсивне зниження дистрофічних явищ у епідермісі.

Результати порівняння запропонованого засобу з прототипом, надані у Табл. № 4.

Отже, проведені експериментальні дослідження технічного результату свідчать про те, що вплив протизапальним лікарським засобом, що заявляється, в умовах експерименту забезпечує значне переверщення технічного результату, що властивий прототипу - «Poly-mineral». Запропонований лікувальний засіб у клінічній практиці може набути корисності при використанні для лікування гострих і хронічних захворювань опорно-рухового апарату, наприклад, артритів, радикулітів, міозитів й інших, серцево-судинної системи - ппертонічної хвороби, ангіопатії та облітеруючих захворювань нижніх кінцівок, деяких запальних захворювань шкіри тощо, в разі відповідного доопрацювання. Для заявленого об'єкта у тому ви-

гляді, що висловлений у незалежному пункті формули, підтверджена можливість його здійснення за допомогою вказаних у заявці або відомих до дати пріоритету засобів (на основі використання сировини місцевого походження), засіб, що втілює заявлений винахід, забезпечує досягнення важливого технічного результату, що полягає в підвищенні протизапальної дії шляхом покращення штучної селекції вмісту інгредієнтів.

Таблиця №1

Обсяг задньої кінцівки щура після введення 2% розчину формальдегду

Крок дослідження	Обсяг кінцівки, см	Зміни обсягу, %
До введення розчину формальдегду		
На початку	1,9 + -0,9	
Після введення розчину формальдегду		
Через 30 хвилин	2,02 + -0,09	+ 6,3
Через 60 хвилин	2,28 + -0,09 *	+ 20,0
Через 90 хвилин	2,60 + -0,07 *	+ 36,8
Через 120 хвилин	2,90 + -0,07 *	+ 52,6
Через 150 хвилин	2,94 + -0,05 *	+ 54,7
Через 180 хвилин	2,96 + -0,05 *	+ 55,8
Примітка * - $p < 0,05$ у порівнянні до контролю		

Таблиця №2

Динаміка змін запалення кінцівки щура при аплікаціях протизапальним лікарським засобом, що заявляється

Крок дослідження	Обсяг кінцівки, см ³	Зміни обсягу, %
До введення протизапального лікарського засобу, що заявляється		
На початку	2,96 + - 0,05	
Після введення протизапального лікарського засобу, що заявляється		
Через 30 хвилин	2,92 + - 0,03	-1,4
Через 60 хвилин	2,92 + - 0,03	-1,4
Через 90 хвилин	2,78 + - 0,02	-6,1*
Через 120 хвилин	2,72 + - 0,03	-8,1*
Через 150 хвилин	2,60 + - 0,06	-12,2*
Через 180 хвилин	2,48 + -0,05	-16,2*
Через 300 хвилин	2,42 + -0,04	-18,2*

Примітка * - $p < 0,05$ у порівнянні до контролю

Таблиця №3

Вплив концентрації мінеральних компонентів на протизапальний ефект

Концентрація розчину, %	Зменшення обсягу кінцівки, %	Побічні ефекти, %
10	1 1,4 \pm 3,6	відсутні
35	53,6 \pm 8,8 *	відсутні
50	59,4 \pm 9,2 *	14,3 \pm 2,7
Примітка * - $p < 0,05$ у порівнянні до контролю		

Таблиця №4

Результати впливу протизапальним лікарським засобом, що заявляється, та препаратом «Polymingrol» на величину запалення кінцівок щурів

Чинник запалення	Зменшення обсягів кінцівок			
	протизапальний лікарський засіб		«Polymingrol»	
	% до початку	% до контролю	% до початку	% до контролю
Формалін	53,6 \pm 8,8*	-29,1	69,4 \pm 8,6	-8,8
Гістамін	11,1 \pm 1,4*	-64,7	13,8 \pm 3,4*	-56,2
Серотонін	17,7 \pm 1,8*	-59,3	22,5 \pm 6,4*	-48,3
Каррагенін	41,1 \pm 6,3*	-45,8	64,0 \pm 11,8	-15,6
Примітка * - $p < 0,05$ у порівнянні до контролю				

Джерела інформації

- 1 Машковский М Д Лекарственные средства, в 2-х частях, ч 1-12-е изд, перераб и доп - М Медицина, 1993 -с 224-225
- 2 Лекарственные препараты в России Справочник -М Астра Фарм Сервис, 1995 -741с
- 3 Регистр лекарственных средств России / Гл ред Ю Ф Крылов -М Инфармахим, 1993 -754с
- 4 Трахтенберг И М Проблемы нормы в токсикологии -М Медицина, 1984 -272с
- 5 Плохинский Н А Биометрия - М Изд-во Моск ун-та, 1978 -368с



УКРАЇНА

(19) UA (11) 45277 (13) A

(51) B6 A61B5/0484

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) КРИТЕРІЙ ОЦІНКИ ВІДТВОРЕННЯ УМОВНОЇ ПАСИВНО-ЗАХИСНОЇ РЕАКЦІЇ

1

(21) 2001107278

(22) 25.10.2001

(24) 15.03.2002

(46) 15.03.2002, Бюл. № 3, 2002 р.

(72) Чорна Валентина Іванівна, Дроздов Олексій
Леонідович, Дзяк Людмила Антонівна

2

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА
АКАДЕМІЯ(57) Використання гліального кислого
фібрилярного білка крові як критерію оцінки
відтворення умовної пасивно-захисної реакції.

Винахід відноситься до медицини, а саме до визначення, виміру або реєстрації з діагностичною ціллю, і може бути використаним в теоретичній або клінічній психології, невропатології та інших галузях медицини.

При експериментальному дослідженні процесів навчання, а також структури та механізму функціонування пам'яті, розкриття яких має суттєве значення для розвитку сучасної медицини, використовуються умовні реакції активного та пасивного уникнення тварини [1].

Формування енграм пам'яті у процесі навчання тварин призводить до утворення нових синаптичних зв'язків між структурами головного мозку, що беруть участь в реалізації поведінкового акту. Значну роль в процесах консолідації, збереження та відтворення енграм пам'яті виконують клітини астроцитарної глії [2]. До складу протеїнового цитоскелету, що обумовлює форму, обсяг клітин і стан їхньої поверхневої мембрани, входить гліальний кислий фібрилярний білок (ГФКБ) проміжних філаментів астроцитів [3].

При оцінці умовної реакції пасивного уникнення тварини (УРПУ) звичайно вживають візуалізацію та хронометраж, як показники формування структурно-функціональної реакції та оцінки умовної пасивно-захисної реакції тварини [4].

Але, візуалізація складових поведінки позбавляє дослідження кількісних характеристик, а хронометраж має суб'єктивний характер, що знижує вірогідність оцінки реакції пасивного уникнення.

У іншій методиці як показник оцінки відтворення умовної пасивно-захисної реакції поряд з спостереженням поведінкових критеріїв використовують вимірювання концентрації гліального кислого фібрилярного білка в структурах головного мозку [5].

Додаткове кількісне визначення експресії глікопротеїну ГФКБ надає можливість порівняння

динаміки змін поведінки зі зміною вмісту білка, відповідального за процеси структурного формування та функціональної активності астроцитів, які виконують трофічні функції щодо нейронів окремих утворень головного мозку, котрі відіграють істотну роль у мнестичних процесах, а відтак - забезпечує високу вірогідність оцінки стану та динаміки формування умовних реакцій уникнення тварини.

Наявність взаємозв'язку між формуванням умовної реакції тварини та кількістю ГФКБ в структурах головного мозку після початку навчання дозволяє, визначивши його вагову кількість під час вироблення умовної реакції тварини, оцінити ступінь та тривалість участі окремих утворень головного мозку в процесі її формування [6].

Тож, реєстрування кількісних змін експресії протеїну забезпечує підвищення вірогідності оціночного критерію відтворення умовної пасивно-захисної реакції.

Але доведена раніше можливість об'єктивізації оцінки стану пам'яті шляхом визначення вмісту ГФКБ в структурах мозку не може знайти практичного застосування в клінічній практиці в зв'язку з неможливістю отримання такого досліджуваного матеріалу, як тканина мозкового утворення у людини.

В основу винаходу поставлено задачу створити такий критерій оцінки відтворення умовної пасивно-захисної реакції, який шляхом використання крові як середовища що відбиває зміни вмісту нейропептидів в мозку забезпечує поширення меж його використання в клінічній практиці.

Для вирішення поставленої задачі запропоновано вжиття гліального кислого фібрилярного білка крові як критерій / оцінки відтворення умовної пасивно-захисної реакції при використанні.

Визначення можливості використання виміру концентрації ГФКБ в сироватці крові як діагностич-

ного критерію умовах поліпшення та погіршення мнестичних процесів забезпечує поширення меж використання показника в клінічній практиці, без необхідності використання такого досліджуваного матеріалу, як тканина мозкового утворення людини.

Це обумовлено тим, що під час вироблення умовного рефлексу або його штучного пригнічення створюються передумови для змін в процесах синтезу, депонування, а також елімінації ГФКБ через гемато-енцефалічний бар'єр в систему кровообігу з подальшою можливістю визначення відповідних змін його концентрації в крові внаслідок означених процесів.

Для перевірки рішення задачі та підтвердження досягнення технічного результату, що заявляються, нами було проведено експеримент за такою методикою.

Умовно-рефлекторну реакцію пасивного уникнення виробляли у білих щурів-самців лінії Вістар в лабіринті з електрифікованою підлогою. Для кількісного визначення вмісту ГФКБ використовували сироватку крові білих щурів-самців лінії Вістар, як експериментальних тварин (в контрольній та навчентій групах). Крім того, для здійснення діагностики використовували спектрофотометр для мікропланшетів та центрифугу VAC25.

Критерій оцінки відтворення умовної пасивно-захисної реакції визначався наступним чином.

За відомою методикою [4] виробляли умовну реакцію пасивного уникнення тварини, яку було пригнічено шляхом застосування електрошокової амнезії. Через відповідний час (3 доби) було проведено тестування наявності УРПУ у дослідних

тварин, та вимір концентрації глікопротеїну у плазмі крові. Кількісне визначення вмісту ГФКБ у пробах крові, здійснюючи виміри з точністю до $1,000 \pm 0,001$ нг/мл, проводили шляхом твердофазного імуоферментного аналізу з використанням спектрофотометра для мікропланшетів. Проби готували на буферному розчині, який містить 0,25мМ Трис-НС1, 1мМ ЕДТА, 2мМ β -меркаптоетанолу, 0,2мМ PMSF, 0,02% NaNO_3 , 2% Трилону X-100.

При оцінці результатів дослідження порівнювали кількість означеного глікопротеїну, виявлену у контрольних та навчених тварин.

За результатами дослідження було виділено групу щурів, у яких навичка УРПУ після електрошокової амнезії відновилася, та групу, де такого відновлення не спостерігалось. Було проведено порівняльне дослідження концентрації глікопротеїну ГФКБ у сироватці крові у всіх групах тварин. Результати вимірювання наведено в таблиці.

Отже, виявлена значна різниця концентрації ГФКБ в плазмі крові тих експериментальних тварин, які втратили здатність відтворювати умовну пасивно-захисну реакцію уникнення після електрошоку, порівняно з контрольними тваринами та тваринами, які не виявили поведінкових ознак електрошокової амнезії. Це дає можливість використовувати величину концентрації ГФКБ в сироватці крові щурів як об'єктивний критерій оцінки відтворення умовної пасивно-захисної реакції в експерименті на тваринах, а надалі вживати його для оцінки стану мнестичних процесів при клінічному дослідженні людини.

Таблиця

Концентрація глікопротеїну ГФКБ (нг/мл) у сироватці крові білих щурів при формуванні УРПУ

Показники	Контроль	Ел. шок	Амнезовані	Амнезовані, відновили УРПУ	Амнезовані, не відновили УРПУ	Неамнезовані	Неамнезовані, зберегли УРПУ	Неамнезовані, втратили УРПУ
M	3,722	12,072	11,679	11,667	11,672	4,570	3,878	5,088
$\pm m$	0,392	2,282	0,577	0,762	0,816	0,350	0,279	0,503
%	-	+ 224,30*	+ 213,80*	+ 213,40*	+214,10*	+ 22,80	+ 4,20	+ 36,60

*- показник вірогідно відрізняється від контролю ($p < 0,05$)

Джерела інформації:

1. Herrenstein, R. J. Method and theory in the study of avoidance. Psychol. Rev., 1969, P. 49 - 69.
2. Ройтбак А. И. Нейроглия и образование новых нервных связей в коре мозга. -В кн.: Механизмы формирования и торможения условных рефлексов. М.:Наука, 1973, С. 82 - 94.
3. Fuchs E., Weber K. Intermediate filament: structure, dynamics, function and disease // Ann. Rev. Biochem. -1994. -V. 63. -P. 345 - 382.
4. Буреш Я., Бурешова О. и Хьюстон П. Дж. Методики и основные эксперименты по изучению

мозга и поведения. «Высшая школа», Москва, 1991, С. 175 - 209.

5. Заяв. №2000031752 України. МПК7: А61В5/0484. Спосіб мікροструктурно-функціональної оцінки формування енграм умовно-рефлекторної пам'яті / О. Л.Дроздов та інші (Україна) -№2000031752; заявл. 28.03.2000.

6. Дзяк Л. А., Дука Т. І., Дроздов О. Л., Чорна В. І. Гліальний кислий білок у структурах мозку щурів при виробленні пасивно-оборонного навику. Ж. Нейрофізіологія., т. 31, 4, 1999, стр. 348 - 349.

Перцева Тетяна Олексіївна

Терапевт, доктор медичних наук, професор, заслужений працівник вищої школи, член-кореспондент НАМН України, 1952 року народження. У 1975 р. закінчила ДМІ і до 1980 р. працювала дільничним терапевтом. У 1983 р. закінчила клінічну ординатуру кафедри госпітальної терапії. З 1983 до 1992 р. – асистент, доцент кафедри госпітальної терапії - 1. З 1992 р. і донині – завідувача кафедрою факультетської терапії та ендокринології.

У 1984 р. захистила кандидатську дисертацію "Гемосорбция в комплексном лечении больных тяжелой формой инфекционно-аллергической бронхиальной астмой и астматическим статусом", а у 1992 р. – докторську "Клинико-диагностические и терапевтические аспекты поражения зритроцитарных мембран у больных хроническим бронхитом по мере нарастания дыхательной недо-статочности".

Науковий напрямок – проблеми пульмонології. За ініціативою Тетяни Олексіївни створена і успішно працює регіональна "Аст-ма-школа", організований постійно діючий семінар з актуальних проблем пульмонології.

Автор понад 170 наукових праць, методичного посібника "Хвороби органів дихання". Під її керівництвом захищені 11 кандидатських дисертацій, виконуються 1 докторська і 6 кандидатських дисертацій.

З 1992 до 1993 р. – декан медичного факультету, з 1993 до 1996 р. – другий проректор з учбової роботи, з 1996 р. і донині – проректор з учбової роботи ДДМА.

Член Європейського респіраторного товариства, Українського пульмонологічного товариства, член редколегії журналів "Український пульмонологічний журнал", "Український терапевтичний журнал".

Нагороджена знаком "Відмінник охорони здоров'я".



УКРАЇНА

(19) UA (11) 45278 (13) A

(51) 6 G01N30/00, G01N30/02

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЕУФІЛІНУ ШЛЯХОМ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

1

(21) 2001107279

(22) 25 10 2001

(24) 15 03 2002

(46) 15 03 2002, Бюл. № 3, 2002 р.

(72) Перцева Тетяна Олександрівна, Варченко Віталій Григорович, Вяткін Олександр Костянтинович, Дроздов Олексій Леонідович, Маматов Валерій Петрович, Красновська Ольга Юріївна, Онищенко Тетяна Станіславівна

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ, ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА СЕРТИФІКАЦІЇ

2

(57) Спосіб визначення вмісту еуфіліну шляхом рідинної хроматографії, який містить кислотну обробку проби, її екстрагування сумішшю хлороформу з ізопропанолом, взятих у співвідношенні 95/5, відділення органічного шару, фільтрацію, випаровування, розчинення сухого залишку 0,03 Н розчином соляної кислоти та хроматографування з використанням як елюенту суміші ацетонітрилу з водою при заданому співвідношенні частин, який відрізняється тим, що кислотну обробку проби здійснюють еквімолярною кількістю 6% хлорної кислоти, а задане співвідношення ацетонітрилу і води становить 20/80.

Винахід відноситься до дослідження або аналізу матеріалів, переважно шляхом розділення їх на складові частини з використанням хроматографії, наприклад колоночної, та може бути використаний в дослідженнях медичних і хімічних лабораторій.

Еуфілін (Euphillinum) являє серцево-судинний, переважно спазмолітичний засіб, на разі теофілін з 1,2 етилендіамідом, до складу якого входять 80% теофіліну та 20% етилендіаміду (синоніми aminocardol, aminophyllinum, amorphillin, diaphillin (B), gemophillin, metaphillin, neophillin тощо) [1].

Відомий спосіб визначення вмісту еуфіліну шляхом рідинної хроматографії, що містить кислотну обробку проби, її екстрагування хлороформом, відділення органічного шару, випаровування, розчинення сухого залишку розчином соляної кислоти та хроматографування з використанням як елюенту суміші ацетонітрилу з водою при заданому співвідношенні частин, в якому, кислотну обробку проби здійснюють 0,05Н розчином сірчаної кислоти до досягнення рН 2,50, а співвідношення масових частин ацетонітрилу та води в одиниці об'єму становить 85/15 [2].

До причин, що перешкоджають досягненню технічного результату у винаході, що заявляється, відносяться використання хлороформу для екстракції еуфіліну та використання означеної концентрації ацетонітрилу у воді при хроматографуванні.

Це зумовлено тим, що хлороформ знижує ступінь екстракції еуфіліну, а співвідношення частин ацетонітрилу та води в одиниці об'єму 85/15 не призводить до бажаної селективності через надмірну експозицію продуктів розділення та недостатню активність елюенту.

Найбільш близьким об'єктом того ж призначення до винаходу, що заявляється, є спосіб визначення вмісту еуфіліну в рідині шляхом рідинної хроматографії, який містить кислотну обробку рідини, її екстрагування сумішшю хлороформу з ізопропанолом, взятих у співвідношенні 95/5, відділення органічного шару, фільтрацію, випаровування, розчинення сухого залишку 0,03Н розчином соляної кислоти та хроматографування, з використанням як елюенту суміші ацетонітрилу з водою, при заданому співвідношенні частин, в якому кислотну обробку проби виконують соляною кислотою, а співвідношення частин ацетонітрилу та води становить 15/85 [3].

Використання як екстрагенту суміші хлороформу з ізопропанолом, взятих у співвідношенні 95/5, дозволило дещо поліпшити ступінь екстракції еуфіліну за рахунок підвищення полярності екстрагування, а суміші ацетонітрилу з водою при співвідношенні 15/85 - частково поліпшити селективність завдяки збільшенню спорідненості одного з компонентів з елюентом і тривалості інтервалів між періодами їх утримання в суміші.

Однак, селективність хроматографічного розділення у відомому рішенні за дачі є ще недостатньою.

ньою

Причиною що перешкоджає досягненню очікуваного технічного результату, є недостатня елюція продукту, яка зумовлена кислотною обробкою рідини перед екстрагуванням саме соляною кислотою та співвідношенням масових частин ацетонітрилу і води у суміші 15/85

У основу винаходу поставлена задача розробити такий спосіб визначення еуфіліну в рідині, в якому шляхом оптимізації властивостей елюенту та умов перебігу супровідних реакцій підвищується селективність хроматографічного розділення при використанні

Означений технічний результат при здійсненні винаходу досягається тим, що у відомому способі визначення вмісту еуфіліну шляхом рідинної хроматографії, який містить кислотну обробку проби, її екстрагування сумішшю хлороформу з ізопропанолом, взятих у співвідношенні 95/5, відділення органічного шару, фільтрацію, випаровування, розчинення сухого залишку 0,03Н розчином соляної кислоти та хроматографування, з використанням як елюенту суміші ацетонітрилу з водою, при заданому співвідношенні частин, згідно з винаходом, кислотну обробку проби здійснюють еквімолярною кількістю 6% хлорної кислоти, а задане співвідношення ацетонітрилу води становить 20/80

Здійснення кислотної обробки водного розчину еуфіліну еквімолярною кількістю 6% хлорної кислоти дозволяє нейтралізувати значну кількість домішок, наприклад жирів, білків тощо, присутніх у початковому розчині, та забезпечує його оптимальну кислотність, а зміна взаємного співвідношення інгредієнтів, які входять до складу елюенту, посилює відділення еуфіліну та разом з ослабленням агресії соляної кислоти при розчиненні сухої остачі значно підвищує ефективність рідинної хроматографії

Співвідношення ацетонітрилу з водою (20/80), яке більш визначає безпосередні властивості елюенту, є найоптимальнішим, бо забезпечує найбільш вигідну полярність елюції для повноти розділення фракції при хроматографуванні, з меншою експозицією інгредієнтів

Підвищення селективності хроматографічного розділення вмісту підтверджується покращенням показників ступеню екстракції та чутливості визначення еуфіліну в пробі (див. таблицю)

Отже, відмінності об'єкта що заявляється, є істотними, оскільки мають причинно-наслідковий зв'язок з технічним результатом

Для визначення еуфіліну в рідині використовували хроматограф «Мілліхром-1», колонку з повернутофазним сорбентом «Діасорб-130» (С16Т, D = 7mkm) або іншого типу, що забезпечує довжи-

ну хвилі 270nm і швидкість потоку 100мкл/хв, а також елюент, виготовлений у вигляді суміші ацетонітрилу з водою при співвідношенні масових частин 20/80, водний 2,4% розчин еуфіліну (ПО «Дарниця», Україна), хлорну кислоту 6% та екстрагент, виготовлений у вигляді суміші хлороформу з ізопропанолом при взаємному співвідношенні частин 95/5

Визначають вміст еуфіліну в рідині розчину наступним чином

До водного розчину еуфіліну додають еквімолярну кількість 6% хлорної кислоти з подальшим перемішуванням компонентів. До отриманої рідини додають екстрагент - суміш хлороформу з ізопропанолом, які беруть у співвідношенні 95/5, з подальшим екстрагуванням шляхом примусового струшування. Піпеткою відокремлюють шар органічної рідини, а масу, що залишилася, фільтрують. У подальшому відфільтрований екстракт випаровують насухо, а суху остачу обробляють 0,03Н розчином соляної кислоти, потім проводять хроматографування з використанням як елюенту суміші ацетонітрилу з водою, взятих у співвідношенні 20/80

Для експериментального підтвердження технічного результату, що досягається способом, до 0,5мл розчину еуфіліну додавали 0,5мл хлорної кислоти та перемішували. Надалі додавали 5мл екстрагенту, а саме хлороформ з ізопропанолом у співвідношенні 95/5. Екстракцію здійснювали протягом 25хв шляхом струшування, шар органічної рідини відділяли піпеткою, а аналізат піддавали фільтрації з подальшим промиванням фільтрувального паперу порцією 2мл хлороформу. Відфільтрований екстракт насухо випаровували у скляних пробірках на ротаторному випарнику, а сухий залишок розчиняли в 200мкл 0,03Н соляної кислоти, після чого проводили хроматографування з використанням як елюенту суміші ацетонітрилу з водою, взятих у співвідношенні 20/80

Таким чином, шляхом оптимізації підбору складових елюенту та умов перебігу супровідних реакцій доведена можливість перевіршення технічного результату, що був відомий заявнику з рівня техніки. Підвищення селективності рідинної хроматографії підтверджується покращенням чутливості та ступеню екстракції продукту за рахунок повного розділення інгредієнтів фракції при мінімальній експозиції. Використання способу в науково-дослідних лабораторіях медичних або хімічних підприємств допоможе підвищити вірогідність визначення шуканого агента, з можливістю високої точної оцінки імовірностей виникнення неадекватних явищ та проведення відповідних корегувальних заходів

Таблиця

Порівняльний аналіз способів визначення вмісту еуфіліну шляхом рідинної хроматографії

Показники	Заявлене рішення задачі	Прототип
Чутливість визначення еуфіліну в пробі, нг/мл	80	100
Ступінь екстракції еуфіліну, од	0,95	0,85



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 45279

(13) A

(51) 6 G01N30/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЕУФІЛІНУ У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ

1

(21) 2001107280

(22) 25 10 2001

(24) 15 03 2002

(46) 15 03 2002, Бюл. № 3, 2002 р

(72) Дроздов Олексій Леонідович, Вяткін Олександр Костянтинович, Дзяк Георгій Вікторович, Маматов Валерій Петрович, Рудько Андрій Миколайович, Варченко Віталій Григорович

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ, ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА СЕРТИФІКАЦІЇ

(57) 1 Спосіб визначення вмісту еуфіліну у водному розчині, що містить фільтрацію та центрифугування проби, який відрізняється тим, що заздалегідь приготровляють перший, другий і третій буферні розчини, після фільтрації пробу змішують з третім буферним розчином, як активатором еуфіліну, та центрифугують зі швидкістю 2000-6000 об/хв протягом 2-6 хв, надалі між пробю та другим буферним розчином, як електролітичним середовищем, встановлюють капілярну трубку, з можливістю підтримки внутрішнього тиску на рівні 30 бар протягом 15 сек, підводять до них потенціали високовольтного джерела напругою 20 кВ, комутують ланцюги живлення, реєструють оптичну щільність проби під час її переміщення крізь капілярну трубку, ідентифікують та визначають

2

вміст еуфіліну шляхом перетворення даних в аналоговий сигнал

2 Спосіб визначення вмісту еуфіліну у водному розчині за п 1, який відрізняється тим, що перший буферний розчин містить борну кислоту, тетраборат натрію та воду дистильовану при наступному співвідношенні інгредієнтів, см³

борна кислота при кон-	
центрації 0,2 моль/дм ³	5,5
тетраборат натрію при	
концентрації 0,05	
моль/дм ³	6,5
вода дистильована	38,0

3 Спосіб визначення вмісту еуфіліну у водному розчині за п 1, який відрізняється тим, що другий буферний розчин містить поряд з першим буферним розчином додецилсульфат натрію та воду дистильовану при наступному співвідношенні інгредієнтів, см³

перший буферний роз-	
чин	25,0
додецилсульфат натрію	
при концентрації 0,2	
моль/дм ³	10,0
вода дистильована	15,0

4 Спосіб визначення вмісту еуфіліну у водному розчині за п 1, який відрізняється тим, що третій буферний розчин містить другий буферний розчин і воду дистильовану у співвідношенні 1 10

Винахід відноситься до досліджень або аналізу матеріалів, здебільшого шляхом розділення їх на складові частини, та може бути використаним в дослідженнях фармацевтичних та хімічних лабораторій

Еуфілін (Euphillinum) являє серцево-судинний, переважно спазмолітичним засобом складу якого входять 80% теофіліну та 20% етилендіаміду (синоніми Aminocardol, Aminophillinum, Ammophilin, Diaphillin (B), Gemophilin, Metaphillin, Neophilin тощо) [1]

Відомі способи визначення вмісту еуфіліну у водних розчинах, в яких здійснюють кислотну об-

робку проби, її екстрагування хлороформовою сумішшю, фільтрацію, випаровування, центрифугування, розчинення сухого залишку розчином соляної кислоти та хроматографування, з використанням як елюенту суміші ацетонітрила з водою при технологічно прийнятливих співвідношеннях масових частин [2,3]

Технічна еволюція означених об'єктів здійснювалася пошуком найефективніших умов обробки рідини на підготовчих фазах, екстрагентів та елюентів для рідинної хроматографії

Але використання хімічних засобів в рідинній хроматографії не дозволяє підвищити ступінь екс-

тракції еуфіліну з-поза присутності останніх в розчинах, як зайвих домішок, а також залишається недостатнім для забезпечення оптимальних рівнів поляризації, активності елюенту, тривалості інтервалів між періодами утримання аналізата в суміші тощо

Разом із цим, відомим об'єктам притаманні понадмірні тривалість підготовки проби до аналізу та вартість обладнання, що є необхідним для відтворення способів (див. Табл. 1). Тільки термін підготовки аналізату до випробувань (час екстракції, центрифугування, випаровування до 1,5 мл, випаровування насухо, фільтрації) сягає близько 110 хв, а вартість обладнання для здійснення рідинної хроматографії становить понад 18, а деякого більше 100 тис. у.о.

Вдосконалення відомих способів мало значення лише для вже запроваджених технологій.

Рівень техніки, який встановлений заявником, інформує про відсутність інших об'єктів аналогічного призначення, які б за сукупністю ознак більше співпадали з об'єктом, що заявляється.

У основу винаходу поставлена задача розробити такий спосіб визначення еуфіліну у водному розчині, в якому шляхом капілярного електрофоруз підвищуються ступінь екстракції аналізату, чутливість, економічність та знижується термін визначення при використанні.

Означений технічний результат досягається тим, що у способі визначення вмісту еуфіліну у водному розчині, що містить фільтрацію та центрифугування проби, згідно з винаходом, заздалегідь приготують перший, другий і третій буферні розчини, після фільтрації пробу змішують з третім буферним розчином, як активатором еуфіліну, та центрифугують зі швидкістю 2000 - 6000 об/хв протягом 2 - 6 хв, надалі між пробой та другим буферним розчином, як електролітичним середовищем, встановлюють капілярну трубку, з можливістю підтримки внутрішнього тиску на рівні 30 мБар протягом 15 сек, підводять до них потенціали високовольтного джерела напругою 20 кВ, комутують ланцюги живлення, реєструють оптичну щільність проби під час її переміщення крізь капілярну трубку, ідентифікують та визначають вміст еуфіліну шляхом перетворення даних в аналоговий сигнал, при умовах, що перший буферний розчин містить борну кислоту, тетраборат натрію та воду дистильовану, при наступному співвідношенні інгредієнтів, см:

борна кислота при концентрації 0,2 моль/дм ³	5,5
тетраборат натрію при концентрації 0,05 моль/дм ³	6,5
вода дистильована	38,0
що другий буферний розчин містить поряд з першим буферним розчином додецилсульфат натрію та воду дистильовану, при наступному співвідношенні інгредієнтів, см:	
перший буферний розчин	25,0
додецилсульфат натрію при концентрації 0,2 моль/дм ³	10,0
вода дистильована	15,0
що третій буферний розчин утримує другий буферний розчин і воду дистильовану у співвідношенні 1:10	

Виготовлення буферних розчинів дозволяє отримати та підготувати форетичне середовище до експлуатації, відтворити умови динамічного переміщення аналізата в порожнині капілярної трубки, покращити виявлення кількісних часток, що підлягають реєстрації. Центрифугування проби передбачає застосування найбільш оптимальних режимів впливу на підготовчий фазі. Так, при центрифугуванні зі швидкістю менше 2000 об/хв відбуваються наслідки недостатньої дегазації аналізату, а при швидкості понад 6000 об/хв - пробірка Еппендорфа з пробой не витримує зусиль центробіжних навантажень. Центрифугування проби протягом менше 2 хв супроводжується малою дегазацією проби, а використання більш тривалого терміну дегазації, наприклад, понад 6 хв - недоцільно технологічно та вважається межею досягнення ефекту. Змішування проби з третім буферним розчином дозволяє активізувати динаміку еуфіліну перед міграцією, завдяки зв'язку з зарядженими міцелами додецилсульфату натрію, а від того - забезпечує рух часток еуфіліну, що підлягають реєстрації, в бік до аноду під впливом електричного поля. Розміщення капілярної трубки між пробірками з пробой і другим буферним розчином як електролітичним середовищем, разом із високовольтним джерелом напруги та ланцюгами живлення сприяє відтворенню електрофоруз, тобто умов, що виключають використання зайвих домішок для ідентифікації та визначення еуфіліну. Підтримка тиску в капілярній трубці на рівні 30 мБар при експозиції у 15 сек, надає змогу оптимізувати чутливість детектора під час ідентифікації аналізата. Відхилення від наданих технологічних режимів є недоцільним, бо в разі зменшення значень цих параметрів погіршується чутливість детектора та умов ідентифікації еуфіліну, а при збільшенні - стримується вхід аналізата в капіляр, а відтак - відбувається спотворення результатів. Використання високовольтного джерела напругою 20 кВ зумовлює необхідну швидкість руху часток проби в капілярній трубці під час відтворення форетичного процесу. В разі зниження напруги джерела живлення збільшується термін виходу аналізата, а при підвищенні - спотворюються результати ідентифікації та визначення кількості шуканого агента в пробі. Між тим, реєстрація оптичної щільності еуфіліну, активовані молекули якого рухаються крізь капілярну зону у форетичному середовищі, з подальшим перетворенням даних в аналоговий сигнал, дозволяє визначити аналізат у чистому вигляді, без використання зайвих домішок в пробі, та істотно скорочує тривалість дослідження.

Досягнення означеного вище технічного результату додатково зумовлене утриманням першим буферним розчином борної кислоти, тетрабората натрію та води дистильованої в технологічно прийнятному співвідношенні об'ємних частин 5,5 : 6,5 : 38,0 (см³), бо має вплив на поляризованість форетичного середовища. При цьому, утримання першого буферного розчину у другому, у вигляді суміші з додецилсульфатом натрію та водою дистильованою при технологічно прийнятному співвідношенні об'ємних частин 25 : 10 : 15 (см³) активує форетичний рух нейтральних молекул еуфіліну в капілярній трубці, оскільки регу-

лює зв'язок останніх з зарядженими мицелами додецилсульфата натрію при міграції до анода. Зниження кількості додецилсульфата натрію в розчині, як електролітичному середовищі, може погіршити активність власних мицел, а завищена присутність виснажує електролітичний носій при використанні. Між тим, розбавлення другого буферного розчину водою дистильованою у співвідношенні 1 : 10 оптимізує чутливість ідентифікації та детектування оптичної щільності. Збільшена концентрація форетичного середовища збігається до утворення помилок, а зменшена - запобігає потраплянню проби до капілярної трубки та її переміщенню в порожнині останньої, стає чинником невідтворюваності форетичного процесу. Буферні розчини в загалі забезпечують поляризацію проби, електролітично-форетичні функції капілярного електрофорезу.

Сукупність наданих ознак відбиває технологічні умови ідентифікації, реєстрації та визначення вмісту еуфіліну в пробі, для яких виключення необхідності додання допоміжних домішок до проби вважається вельми характерним, і має зв'язок з підвищенням ступеня екстракції аналізата, чутливості, економічності та зниженням терміну визначення при використанні.

Отже, сукупність відокремлюючих ознак заявленого об'єкта за наявності причинно-слідчих зв'язків з технічним результатом можливо кваліфікувати суттєвою.

Для визначення еуфіліну у водному розчині застосовували промислову систему капілярного електрофорезу «Капель-103Р» (виробництва РФ), кварцовий капіляр 0,075 мм і довжиною 600 мм, ваги лабораторні 2 класу, міри маси, дозатори піпеточні змінних обсягів (5 - 50 мм³, 50 - 200 мм³, 200 - 1000 мм³), рН метр, програмне забезпечення «Мультіхром» і комп'ютер мінімальної конфігурації.

Допускається використання приладів і устаткування інших моделей з аналогічними або більш кращими метрологічними характеристиками.

Допоміжні пристрої: центрифуга, що забезпечує швидкість 2000 - 6000 об/хв, пробірки одноразові типу Еппендорфа, місткістю 1,5 см³, фільтри целюлозно-ацетатні, з діаметром пір біля 20 мкм, насадки фільтра.

Реактиви: вода дистильована, додецилсульфат і гідроксид натрію, борна кислота, натрій тетраборноокислий, з молярною концентрацією еквівалентів не менше 0,1 моль/дм³.

Спосіб визначення вмісту еуфіліну у водному розчині виконують у наступній послідовності:

Заздалегідь приготують перший, другий та третій буферні розчини.

Перший буферний розчин формують шляхом змішування борної кислоти, тетрабората натрію та води дистильованої, другий - шляхом додання до нього додецилсульфата натрію та води дистильованої, третій - шляхом розчинення другого буферного розчину водою дистильованою, при технологічно сприятливих співвідношеннях масових частин інгредієнтів всіх буферів.

Після фільтрації проби у пробірку додають третій буферний розчин і центрифугують для дегазації у оптимальному технологічному режимі. Між

пробою та електролітичним середовищем, функцію якого виконує другий буферний розчин встановлюють порожнистий транспортувальний провідник, а саме капілярну трубку, забезпечують в ній необхідний режим внутрішнього тиску та підводять потенціали високовольтного живлення. Після комутації електричних ланцюгів живлення нейтральні молекули еуфіліну мігрують від пробірки до другого буферу крізь капілярний провідник, завдяки взаємодії із зарядженими мицелами додецилсульфата натрію під впливом електричного струму. За допомогою детектора, що розміщується впритул до капіляра, ідентифікують та реєструють оптичну щільність проби шляхом перетворення даних в аналоговий сигнал та визначають вміст еуфіліну в пробі.

Тож, спосіб дозволив шляхом капілярного електрофорезу визначити вміст аналізата в пробі, а разом із цим - посилити ступінь екстракції аналізата, чутливість, економічність та знизити термін його визначення, завдяки усуненню впливу чинників низької поляризації, дисбаланса періодів утримання еуфіліну в елюенті та зайвих домішок під час проведення рідинної хроматографії (див таблицю).

До додаткових переваг запропонованого рішення задачі над прототипом належать зниження токсичності хімічних реактивів, матеріальних витрат, що пов'язані з придбанням останніх, кількісних витрат реактивів, собівартості дослідження, терміну підготовки проби, підвищення рівня автоматизації, оптимізації технологічних режимів, спрощення умов відтворення способу й т.п.

Для перевірки технічного результату на прикладі конкретного використання у модельному водному розчині визначали вміст еуфіліну в наступній послідовності:

Для виготовлення першого буферного розчину у мірну колбу місткістю 50 см³ додавали 5,5 см³ розчину борної кислоти при концентрації 0,2 моль/дм³, 6,5 см³ розчину тетрабората натрію при концентрації 0,05 моль/дм³, а потім обсяг доводили до мітки дистильованою водою.

Другий буферний розчин складали з першого буферного розчину, додецилсульфата натрію та води дистильованої. У мірну колбу місткістю 50 см³ вміщували 25 см³ першого буферного розчину, 10 см³ розчину додецилсульфата натрію при концентрації 0,2 моль/дм³, з наступним доведенням обсягу до мітки дистильованою водою.

Термін зберігання розчинів в судинах з поліетилену складав 1 місяць.

Безпосередньо перед вимірюваннями, другий буферний розчин розбавляли водою дистильованою у співвідношенні 1 : 10.

Для підготовки проби до аналізу її фільтрували через целюлозно-ацетатний фільтр, заздалегідь промитий дистильованою водою. У пробірку Еппендорфа відбирали 0,3 см³ аналізата й додавали 0,3 см³ третього буферного розчину, перемішували та дегазували на центрифугу протягом 5 хв зі швидкістю 4000 об/хв.

Між пробітками з пробою та другим буферним розчином, як електролітичним середовищем, встановлювали капілярну трубку. Перед підведенням до них потенціалів високовольтного джерела

напругою 20кВ, в порожнині капіляра протягом 15сек утворювали тиск, що дорівнював 30мБар дискретно. Комутовали ланцюги живлення. Нейтрапні молекули еуфіліну під впливом електричного струму рухались до аноду у форетичному середовищі кризь капіляр. На довжині хвилі детектора 254нм, що контактував із капілярною трубкою, ідентифікували еуфілін та визначали кількість останнього в пробі шляхом перетворення оптичної щільності потоку в аналоговий сигнал.

Сигнал з приладу надходив до комп'ютера та відбивався у вигляді електрофореграми. Побудова градуировочної залежності, з використанням значень шуканого агента між верхньою та нижньою межами виявлення, визначення площ піків заданої концентрації дозволили визначити концентрацію

еуфіліну в пробі.

Загальна межа виявлення еуфіліну (чутливість) у модельному водному розчині становила 30нг/мл, його екстракція сягала 100%, час виходу - 5хв, а термін аналізу - 7хв.

Отже, на прикладі конкретного використання об'єкта доведена можливість перевершення технічного результату, що був відомий заявнику з рівня техніки. Використання способу визначення вмісту еуфіліну у водному розчині науково-дослідними лабораторіями фармацевтичних та хімічних підприємств допоможе знизити собівартість вимірів при 100% вірогідності визначення шуканого агента, з можливістю своєчасного корегування вмісту даного фармакологічного засобу в лікарській формі.

Таблиця

Техніко-економічне порівняння шляхів капілярного електрофорезу та рідинної хроматографії для визначення вмісту еуфіліну в хімічних сполуках

Показники	Заявлене рішення задачі	Прототип
Загальна тривалість пробопідготовки, хв	7	ПО
-термін екстракції еуфіліну, хв	не потрібний	25
- термін центрифугування, хв	5	60
-термін випаровування до 1-5 мл, хв	не потрібний	10
- термін випаровування насухо, хв	не потрібний	10
- термін фільтрації, хв	2	5
Загальний термін аналізу, хв	12	114
Загальна вартість обладнання, ум од	11 000	18000
Чутливість визначення еуфіліну в пробі, нг/ мл	30	100
Ступінь екстракції еуфіліну, од	1,00	0,85

Література

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В двух томах. Т. 1. Изд. 10-е, стереотипное. М. «Медицина», 1987, с. 457.
2. Крамаренко В.Ф. Токсикологична хімія. К. «Вища школа», 1989, 446с.

3. <http://ilch.vsmu.edu.ua/hplc/dmg/l-0002.htm> - Інтернет-сайт спільної медикобіологічної лабораторії Вінницького державного університету ім. Н.І. Пирогова та Інституту поверхності НАН України. Теофілін (Updated 10.09.2001).



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 45280

(13) A

(51) 6 G01N30/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ РИБОКСИНУ У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ

1

(21) 2001107281

(22) 25 10 2001

(24) 15 03 2002

(46) 15 03 2002, Бюл. № 3, 2002 р.

(72) Варченко Віталій Григорович, Вяткін Олександр Костянтинівич, Дзяк Георгій Вікторович, Маматов Валерій Петрович, Дроздов Олексій Леонідович, Рудько Андрій Миколайович

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ, ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА СЕРТИФІКАЦІЇ

2

(57) Спосіб визначення вмісту рибоксину у водному розчині, що включає поляризацію розчину буферною сумішшю при співвідношенні масових частин 1:1 в пробі як форетичному середовищі, дегазацію, детектування оптичної щільності рибоксину на довжині хвилі аналізатора 270 нм під час міграції іонів в порожнині капіляра в бік до анода, утворення електрофореграми відповідно до результатів детектування, обчислення площин піків останньої з перетворенням підсумкового результату у показник кількісного вмісту

Винахід відноситься до досліджень або аналізу матеріалів, здебільшого шляхом розділення їх на складові частини, та може бути використаним в дослідженнях фармацевтичних та хімічних лабораторій

Рівень техніки, який досліджений заявником, інформує про відсутність об'єктів аналогічного призначення, які б за сукупністю ознак співпадали з об'єктом, що заявляється

У основу винаходу поставлена задача розробити такий спосіб визначення вмісту рибоксину у водному розчині, який шляхом капілярного електрофорезу забезпечує повну реєстрацію вмісту, високу швидкість та чутливість детектування при використанні

Означений технічний результат досягається тим, що, згідно з винаходом, спосіб визначення вмісту рибоксину у водному розчині містить поляризацію розчину буферною сумішшю при співвідношенні масових частин 1:1 в пробі, як форетичному середовищі, дегазацію, детектування оптичної щільності рибоксину на довжині хвилі аналізатора 254 нм під час міграції іонів в порожнині капіляру в бік до анода, утворення електрофореграми відповідно до результатів детектування, обчислення площин піків останньої з перетворенням підсумкового результату у показник кількісного вмісту

Зв'язок сукупності ознак запропонованого рішення задачі з технічним результатом полягає в тому, що буферною сумішшю утворюють форети-

чне середовище, в якому виділяють частки шуканого агента з можливістю переміщення останніх в зону детектування, а оптимізація умов безперешкодливої міграції аналіза-та у іонному вигляді позбавляє зайвих витрат часу на підготовчі операції. Поляризація розчину активує нейтральні молекули рибоксину за рахунок посилення зв'язків із зарядженими частками буфера, а нати́вація рибоксину цим шляхом надає змогу ідентифікувати його в розчині. Дегазація забезпечує пробі безперешкодливе потрапляння в порожнину капіляра, чим впливає на повноту та швидкість визначення шуканого агента. При цьому співвідношення масових частин розчину рибоксину з буферною сумішшю 1:1 в пробі є найбільш ефективним, бо при збільшеній присутності буфера в пробі очікується спотворення вихідних даних, з-поміж погіршення чутливості детектора, при зменшенні - спостерігаються погіршення поляризації розчину рибоксину та заряду форетичного середовища, а надалі набуває виснаження останнього, що погіршує відтворення процесу. Детектування оптичної щільності рибоксину в пробі на довжині хвилі 254 нм пов'язане з забезпеченням необхідного порогу чутливості при ідентифікації проби та характеризується дискретним значенням довжини хвилі, як найбільш оптимальним при використанні. Реєстрація оптичної щільності рибоксину, під час міграції його активованих молекул в порожнині капіляру в бік до анода, що має місце після поляризації буфером, тобто після натуралізації іонів

електрохімічним шляхом (без використання допоміжних реактивів), а від того - забезпечує найбільш повну ідентифікацію, об'єктивне визначення вмісту та істотно скорочує тривалість дослідів. Утворення фореграми, що відбиває вміст шуканого агента в пробі, надає зручні аналогово-цифрові можливості його обчислення у подальшому, завдяки оптимізації чутливості детектування та виключенню систематичних і раптових помилок, спотворення результатів при вимірах, які властиві деяким сучасним методикам [1, 2].

Отже, сукупність відокремлюючих ознак заявленого об'єкта за наявності причинно-слідчих зв'язків з технічним результатом можливо кваліфікувати істотною.

Для визначення вмісту рибоксину у експериментальному розчині можливо застосування промислової системи капілярного електрофорезу «Капель-103Р» (виробництва РФ), кварцового капіляра \varnothing 0,075 мм довжиною 600 мм, ваг лабораторних 2 класу, мір маси, дозаторів піпеточних змінних обсягів (5 - 50 мм³, 50 - 200 мм³, 200 - 1000 мм³), рН метру, програмного забезпечення «Мультіхром» і комп'ютера мінімальної конфігурації.

Допускається використання приладів і устаткування інших моделей з аналогічними або більш кращими метрологічними характеристиками.

Допоміжні пристрої: центрифуга, пробірки одноразові типу Еппендорфа, місткістю 1,5 см³, фільтри целюлозно-ацетатні, з діаметром пір біля 20 мкм, насадки фільтра. Реактиви: вода дистильована, борна кислота, натрій тетраборнокислий. Спосіб визначення вмісту рибоксину у водному розчині виконують у наступній послідовності.

Після фільтрації розчину, що містить рибоксин, у пробірку додають буферний розчин при співвідношенні масових частин в пробі 1 : 1, які після відповідної дегазації використовують як фореґетичне середовище. Надалі приступають до капілярного електрофорезу. Під час цього процесу іонізовані нейтральні молекули рибоксину мігрують від пробірки з пробою в бік до аноду крізь капілярний провідник, завдяки взаємодії із зарядженими молекулами фореґетичного середовища. За допомогою детектора, що розміщується впритул до капіляра, ідентифікують та реєструють оптичну щільність рибоксину шляхом перетворення даних в аналоговий сигнал, визначають вміст рибоксину в пробі. При цьому детектування його оптичної щільності здійснюють на довжині хвилі аналізатора 254 нм. Відповідно до результатів детектування, за даними отриманих аналогово-цифрових сигналів утворюють електрофореграму. Комп'ютерне забезпечення обчислює площі піків останньої та перетворює підсумковий результат у показник кількісного вмісту.

Тож, спосіб дозволив шляхом капілярного електрофорезу визначити міст аналізата, а разом із цим - досягти повне визначення аналізата в пробі,

швидкість визначення (див таблицю).

До додаткових характеристик нового об'єкта належать відсутність токсичності з боку хімічних реактивів, низька вартість базового обладнання та допоміжних матеріалів, зручність і спрощення умов відтворення способу, висока об'єктивність визначення вмісту й т.і.

Для перевірки технічного результату на прикладі конкретного використання вміст рибоксину визначали у модельному водному розчині в наступній послідовності.

Для виготовлення буферного розчину у мірну колбу місткістю 50 см³ додавали 5,5 см³ розчину борної кислоти при концентрації 0,2 моль/дм³, 6,5 см³ розчину тетрабората натрію при концентрації 0,05 моль/дм³, а потім обсяг доводили до мілкі дистильованою водою.

Розчин рибоксину фільтрували через целюлозно-ацетатний фільтр, заздалегідь промитий дистильованою водою, вміщували в пробірку Еппендорфа у кількості 0,3 см³ й додавали 0,3 см³ буферного розчину, перемішували та дегазували на центрифугі протягом 4 хв зі швидкістю 3200 об/хв.

На ділянці між пробіркою з пробою, як електролітичним середовищем, і анодом встановлювали капілярну трубку. Перед підведенням потенціалів джерела живлення напругою близько 20 кВ, в порожнині капіляра утворювали тиск біля 30 мБар. Після комутації панцюгів живлення нейтральні молекули рибоксину під впливом електричного струму рухались до аноду у фореґетичному середовищі крізь капіляр. На довжині хвилі детектора 254 нм, що контактував із капілярною трубкою, ідентифікували рибоксин та визначали оптичну щільність потоку шляхом детектування. Сигнал з приладу надходив до комп'ютера та відбивався у вигляді електрофореграми. Побудова градієнтної залежності, з використанням значень шуканого агента між верхньою та нижньою межами виявлення, визначення площ піків заданої концентрації дозволили визначити концентрацію рибоксину в пробі.

Загальна межа виявлення рибоксину (чутливість) у модельному водному розчині становила 30 нг/мл в пробі, його екстракція сягала 100%, час виходу - 5 хв, а термін аналізу - 7 хв.

Отже, прикладом конкретного використання доведена можливість відтворення процесу, пов'язаного з визначенням вмісту рибоксину у водному розчині шляхом капілярного електрофорезу, який з рівня техніки, що встановлений заявником, для даного продукту є невідомим.

Використання способу визначення вмісту рибоксину у водному розчині науково-дослідними лабораторіями фармацевтичних та хімічних підприємств допоможе своєчасно корегувати вміст цього фармакологічного засобу в лікарських формах.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 45287 (13) A

(51) B 6 G01N30/00, G01N30/02, G01N33/15

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ЕУФІЛІНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ

1

(21) 2001117810

(22) 15 11 2001

(24) 15 03 2002

(46) 15 03 2002, Бюл. № 3, 2002 р

(72) Перцева Тетяна Олексівна, Варченко Віталій Григорович, Вяткін Олександр Костянтинович, Дроздов Олексій Леонідович, Маматов Валерій Петрович, Красновська Ольга Юрівна, Онищенко Тетяна Станіславівна

2

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ, ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА СЕРТИФІКАЦІЇ

(57) Використання способу визначення вмісту теофіліну у водному розчині як способу визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові

Винахід відноситься до досліджень або аналізу матеріалів шляхом розділення на складові частини, здебільшого до рідинної колоночної хроматографії, та досліджень медичних препаратів, й може бути використаним в медицині.

Рівень техніки, який досліджений заявником, інформує про відсутність об'єктів щодо визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові, відомого також як амінокардол, амінофілін, аммофілін, діафілін, гемофілін, метафілін, неофілін [1].

Відсутність засобів того ж призначення дає можливість стверджувати про те, що винахід не має аналогів.

У основу винаходу поставлена задача розробити спосіб визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові, який шляхом рідинної хроматографії забезпечує технологічно сприйнятливую чутливість і ступінь екстракції, та поширити межі його використання.

Поставлена задача вирішується використанням способу визначення вмісту теофіліну у водному розчині, як способу визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові.

Спосіб визначення концентрації еуфіліну у водному розчині містить кислотну обробку проби, її екстрагування сумішшю хлороформу з ізопропанолом, взятих у співвідношенні 95/5, відділення органічного шару, фільтрацію, випаровування, розчинення сухого залишку 0,03N розчином соляної кислоти та хроматографування, з використанням як елюенту суміші ацетонтрила з водою при технологічно сприйнятливому співвідношенні їх масових частин [2].

На думку заявника відоме технічне рішення

може забезпечити визначення концентрації шуканого агента в сироватці крові у відомому вигляді.

Використання як екстрагента суміші хлороформу з ізопропанолом у співвідношенні 95/5 зумовлює поляризацію сироватки крові в пробі та забезпечення необхідної ступіні екстракції еуфіліну при екстрагуванні, а суміш ацетонтрила з водою забезпечує спорідненість сироватки крові з елюентом, утворює між періодами утримання виділених фракцій інтервали, достатні для визначення концентрації аналізу в сироватці, а від так - забезпечує чутливість, необхідну для повного визначення еуфіліну в крові.

Змінюючи співвідношення компонентів вмісту в елюенті в допустимих межах можливо впливати на селективність, а від того - вийти на більш високий поріг чутливості при визначенні концентрації шуканого агента в сироватці крові ніж у водному розчині. Доопрацювання кислотного впливу на початкову пробу надає змогу не тільки нейтралізувати дію складових елементів сироватки крові, але й оптимізувати її кислотність та пригнітити водночас кислотну агресію.

Відомості, що підтверджують можливість відтворення способу полягають в наступному.

Для визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові використовували хроматограф «Міплі-хром-1», колонку з повернутонофазним сорбентом «Діасорб-130» або іншого типу, що забезпечує довжину хвилі 270nm і швидкість потоку 100мкл/хв, а також елюент, виготовлений у вигляді суміші ацетонтрила з водою при технологічно сприйнятливих співвідношеннях масових частин, водний 2,4% розчин еуфіліну (ПО «Дарниця», Україна),

хлорна 6% чи соляна 5% кислота та екстрагент, виготовлений у вигляді суміші хлороформу з ізопропанолом при взаємному співвідношенні частин 95 : 5

Для визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові пробу спочатку змішують з заданою кількістю кислоти. До отриманої суміші додають екстрагент - хлороформ з ізопропанолом, які беруть у співвідношенні 95 : 5, з подальшим екстрагуванням шляхом примусового струшування. Піпеткою відокремлюють органічний шар і фільтрують залишок. У подальшому відібраний екстракт випаровують насухо, а суху остачу обробляють 0,03N розчином соляної кислоти та проводять хроматографування з використанням як елюенту суміші ацетонтрила з водою, взятих у технологічно прийнятливому співвідношенні.

Приклад №1. До 0,5мл сироватки крові додали 0,5мл 0,05N розчину соляної кислоти та перемішали. У отриману суміш ввели 5мл екстрагента, виготовленого на основі хлороформу з ізопропанолом, взятих у співвідношенні 95 : 5. Екстракцію здійснили протягом 25хв шляхом струшування маси, органічний залишок відділили піпеткою, а аналізат піддали фільтрації з подальшим промиванням фільтрувального паперу 2мл порцією хлороформу. Відфільтрований екстракт насухо випарили у скляній пробірці на ротаторному випарнику, а сухий залишок розчинили у 200мкл 0,03N соляної кислоти, після чого провели хроматографування з використанням як елюенту суміші ацетонтрила з

водою, взятих у співвідношенні 15 : 85

Приклад №2. До 0,5мл сироватки крові додали 0,5мл хлорної кислоти та перемішали, до суміші додали 5мл екстрагента - хлороформ з ізопропанолом, у співвідношенні їхніх масових частин 95 : 5. Екстракцію здійснили протягом 25хв шляхом струшування суміші, органічний залишок відділили піпеткою, а аналізат піддали фільтрації. Відфільтрований екстракт насухо випарили у скляній пробірці на ротаторному випарнику, а сухий залишок розчинили у 200мкл 0,03N соляної кислоти, після чого провели хроматографування з використанням як елюенту суміші ацетонтрила з водою, взятих у співвідношенні 20 : 80.

Тож, шляхом рідинного хроматографування доведена можливість забезпечення технологічно прийнятливої чутливості та ступіні екстракції еуфіліну в сироватці крові, здебільшого за рахунок повного розділення інгредієнтів фракції, а також поширення первинних меж використання способу. Використання способу в лабораторіях медичних підприємств, має переважливе значення, бо допомагає підвищити вірогідність визначення шуканого агента, з можливостями високоточної оцінки імовірностей виникнення неадекватних явищ та проведення відповідних терапевтичних заходів. Важливою ознакою використання відомого способу за новим призначенням є відтворення процесу розділення фракції на складові частини, з можливістю визначення її концентрації в сироватці крові.

Таблиця №1

Технічна характеристика способу визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові

Показники	При співвідношенні ацетонтрил : вода = 20 : 80 та обробці проби хлорною кислотою	При співвідношенні Ацетонтрил : вода = 15 : 85 та обробці проби соляною кислотою
Чутливість визначення еуфіліну в пробі, нг/мл	80	100
Ступінь екстракції еуфіліну, од	0,95	0,85

Джерела інформації

- 1 Машковский М. Д. Лекарственные средства. В двух томах. Т. 1. Изд. 10-е, стереотипное. М. «Медицина», 1987, с. 457
- 2 <http://lich.vsmu.edu.ua/hplc/drug/1-0002.htm> -

Сайт совместной медикобиологической лаборатории Винницкого государственного университета им. Н. И. Пирогова и Института поверхности НАН Украины Теофиллин (Updated 10.09.2001)



УКРАЇНА

(19) UA (11) 45914 (13) A

(51) B 6 G01N30/00, G01N33/15

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ РИБОКСИНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ШЛЯХОМ КАПІЛЯРНОГО ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ

1

(21) 2001117809

(22) 15 11 2001

(24) 15 04 2002

(46) 15 04 2002, Бюл. № 4, 2002 р

(72) Варченко В'ячеслав Григорович, Вяткін Олександр Костянтинівич, Дзяк Георгій Вікторович, Маматов Валерій Петрович, Дроздов Олексій Леонідович, Рудько Андрій Миколайович
(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ, ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА СЕРТИФІКАЦІЇ

(57) Спосіб визначення концентрації рибоксину в сироватці крові шляхом капілярного електрофорезу, який відрізняється тим, що відібрану пробу сироватки крові поляризують шляхом змішування з буферною сумішшю при співвідношенні масових

2

частин 1 1, дегазують, змішують з дистильованою водою у співвідношенні 1 10 і використовують як форе-тичне середовище при міграції крізь капілярну трубку та електроліт в бік до анода, детектують оптичну щільність проби, отримують електрофореграму, по термінах виходу сигналів тривалістю 5,00-5,25 хвилин ідентифікують сигнали фракцій рибоксину на фоні сигналів присутніх домішок та визначають концентрацію шляхом співвідношення площ піків фракцій рибоксину в пробі з каліброваними лічильними площинами стандартних концентрацій рибоксину, при цьому для виготовлення буферної суміші як електроліту використовують розчин борної кислоти, тетрабoрату натрію та води дистильованої у співвідношенні об'ємних частин 5,5 6,5 38,0 см³

Винахід відноситься до досліджень або аналізу матеріалів шляхом розділення на складові частини та досліджень медичних препаратів і може бути використаним в медицині

Рівень техніки, який досліджений заявником, інформує про відсутність об'єктів, що мають відношення до визначення вмісту рибоксину в сироватці крові

На підставі відсутності співпадінь призначення відомих об'єктів, до важливішими характеристиками яких є середовище, що утримує фракції шуканого агента (сироватка крові), функція (визначення концентрації) і конкретний вид матеріалу (рибoксин) можливо стверджувати про відсутність аналогів для винаходу, що заявляється

У основу винаходу поставлена задача розробити спосіб визначення концентрації рибоксину в сироватці крові, який шляхом капілярного електрофорезу забезпечує технологічно сприйнятливу чутливість і ступінь екстракції шуканого агента при використанні

Поставлена задача вирішується тим, що, згідно з винаходом, спосіб визначення концентрації рибоксину в сироватці крові шляхом капілярного електрофорезу характеризується тим, що відібрану

пробу сироватки крові поляризують шляхом змішування з буферною сумішшю при співвідношенні масових частин 1 1, дегазують, змішують з дистильованою водою у співвідношенні 1 10 і використовують як форе-тичне середовище при міграції крізь капілярну трубку та електроліт в бік до анода, детектують оптичну щільність проби, отримують електрофореграму, по термінах виходу сигналів тривалістю 5,0 - 5,25 хвилин ідентифікують сигнали фракцій рибоксину на фоні сигналів присутніх домішок та визначають концентрацію шляхом співвідношення площ піків фракцій рибоксину в пробі з каліброваними лічильними площинами стандартних концентрацій рибоксину, при цьому для виготовлення буферної суміші як електроліту використовують розчин борної кислоти, тетрабoрату натрію та води дистильованої у співвідношенні об'ємних частин 5,5 6,5 38,0 см³

Для забезпечення означеного технічного результату буферна суміш, з одного боку, являє форе-тичне середовище, що є необхідним для відтворення капілярного електрофорезу, а з іншого є носієм всіх виділених фракцій. Виділення останніх виконують на підставі поляризації проби, внаслідок чого шуканий агент стає нативним в юнній фо-

рмі, а його нейтральні молекули посилюють зв'язки з зарядженими частками буфера. Від того фракції рибоксину можуть переміщуватися під впливом електричного поля та бути впізнаними засобом детектування. Дегазація зумовлює потрапляння проби в замалий перетин капіляру та безперешкодливе переміщення цього форетичного середовища в його порожнину. Між тим, останні умови істотно впливають на термін виходу рибоксину, спотворення результатів ідентифікації та детектування, об'єктивність й швидкість визначення рибоксину та зумовлюють технологічно сприйнятливу чутливість і ступінь його екстракції. При цьому співвідношення масових частин сироватки крові та буферної суміші в пробі, наприклад в пробірці Еппендорфа, найбільш доцільне в кількості 1 : 1, оскільки при збільшенні кількості буфера в пробі знижується чутливість детектора та спотворюються вихідні дані, а при зменшенні погіршуються міграційні можливості виділених фракцій, фізичні властивості форетичного середовища та відбувається виснаження останнього. Змішування проби з дистильованою водою у співвідношенні 1 : 10 виключає сукупність раптових помилок, що означені вище, і є найбільш оптимальним. Так, при збільшенні концентрації проби, виникають переважно помилки ідентифікації рибоксину з-поміж досить стабільного виходу фракцій, перехід у потраплянні цього робочого розчину в порожнину капіляру крізь замалий геометричний перетин при міграції до анода, а при зменшенні концентрації – погіршуються міграційні можливості виділених фракцій, фізичні властивості форетичного середовища, виснажується робоче середовище, які належать до чинників низького коефіцієнту корисної дії форетичного процесу. Детектування оптичної щільності дозволяє отримати електрофореграму поляризованих фракцій під час міграції до анода, виявити амплітуду відповідних сигналів й терміни виходу вмісту проби. Ідентифікація збігається до розпізнавання сигналів фракцій рибоксину по тривалості виділення на фоні сигналів інших домішок. Експериментальне встановлено, що термін виходу стандартних концентрацій рибоксину в сироватці крові під впливом поляризації сягає 5,00 - 5,25 хвилин і є істотною ознакою сигналів, що притаманні поляризованим фракціям рибоксину в сироватці крові, здатною відрізнити шуканий агент від безлічі присутніх домішок. Використання експериментальних даних про стандартні концентрації рибоксину в сироватці крові, у вигляді площ піків електрофореграм, як каліброваних лічильних одиниць, що насамперед є прямопропорційними до зареєстрованих амплітуд сигналів електрофореграм, найбільш доцільне в обчисленні концентрації екстрагованих часток рибоксину. Кількість об'ємних частин борної кислоти, тетраборату натрію та води дистильованої у буферному розчині, що надана дискретним співвідношенням 5,5 : 6,5 : 38,0 см³ зумовлює необхідну полярність форетичного середовища, виключення систематичних і раптових помилок, спотворення результатів та вважається найбільш доцільною для отримання максимального технічного результату, що заявляється.

Тож, за наявності причинно-наслідкових

зв'язків з технічним результатом сукупність відокремлюючих ознак заявленого об'єкта є істотною.

Відомості, що підтверджують можливість здійснення способу визначення концентрації рибоксину в сироватці крові полягають в наступному.

Для визначення вмісту рибоксину в експериментальній пробі можливо застосування промислової системи капілярного електрофорезу «Капель-103Р» (виробництва Росії), кварцового капіляру Ø 0,075мм довжиною 600мм, ваг лабораторних 2 класу, мір маси, рН метру, дозаторів піпеточних змінних обсягів (5 - 50, 50 - 200 та 200 - 1000мм³), програмного забезпечення «Мультіхром» і комп'ютера мінімальної конфігурації.

Допускається використання приладів і устаткування інших моделей з аналогічними або більш кращими метрологічними характеристиками.

Допоміжні пристрої: центрифуга, пробірки одноразові типу Еппендорфа, місткістю 1,5см³, фільтри целюлозно-ацетатні, з діаметром пір біля 20мкм, насадки фільтра. Реактиви: вода дистильована, борна кислота, натрій тетраборнокислий.

Спосіб визначення концентрації рибоксину в сироватці крові виконують у наступній послідовності.

Після підготовки сироватки крові у пробірці Еппендорфа додають буферний розчин, витримуючи співвідношення масових частин 1 : 1. При цьому буфер містить борну кислоту, тетраборат натрію та воду дистильовану при співвідношенні об'ємних частин 5,5 : 6,5 : 38,0см³. Приготовлений розчин у подальшому використовують як електролітичне середовище, що розміщується між капіляром та джерелом електрорухомоти сили. Аналогічну суміш проби сироватки крові з тим же буфером при співвідношенні масових частин 1 : 1, після відповідної дегазації та змішування з дистильованою водою у співвідношенні 1 : 10, використовують як форетичне середовище у капілярному електрофорезі. Вплив буфером на відібраний аналізат дозволяє поляризувати вміст і виділити фракції у юнному вигляді. Під час електрофорезу поляризовані нейтральні молекули рибоксину мігрують від пробірки з пробою в бік до анодів крізь капілярний провідник та суміш сироватки крові з буфером, як електролітичне середовище, завдяки взаємодії із зарядженими молекулами форетичного середовища, та детектують оптичну щільність проби на довжині хвилі аналізатора 254 нм, який розміщують впритул до капіляру. Отримують електрофореграму та ідентифікують на фоні сигналів присутніх домішок сигнали фракцій рибоксину по терміну виходу в межах 5,00 - 5,25 хвилин. Шляхом зіставлення площ піків електрофореграм з каліброваними лічильними площинами стандартних концентрацій рибоксину, що прямопропорційні до амплітуд сигналів останнього, визначають концентрацію рибоксину в сироватці крові. Програмне забезпечення «Мультіхром» з комп'ютером забезпечують обчислення вихідних даних.

Тож, спосіб дозволив шляхом капілярного електрофорезу забезпечити технологічно сприйнятливу чутливість і ступінь екстракції шуканого агента з можливістю проведення адекватних терапевтичних втручань у подальшому.

Додаткові характеристики нового об'єкта ін-

формують про повноту визначення аналізата в пробі, забезпечення високої швидкості визначення його концентрації, обмеження використання токсичних засобів в дослідженнях, низьку вартість базового обладнання та допоміжних матеріалів, досягнення технологічних зручностей та спрощень при відтворенні способу, високу об'єктивність визначення вмісту, можливість визначення фракцій інших елементів водночас з визначенням вмісту рибоксину тощо

На прикладі конкретного використання концентрацію рибоксину визначали наступним чином

Для виготовлення буферного розчину, що використовували як електролітичне середовище, до мірної колби місткістю 50см³ додавали 5,5см³ розчину борної кислоти при концентрації 0,2 моль/дм³, 6,5см³ розчину тетраборату натрію при концентрації 0,05 моль/дм³ і доводили обсяг до мітки дистильованою водою

Для виготовлення буферного розчину, що використовували для поляризації сироватки крові, до мірної колби місткістю 50см³ аналогічним чином додавали 5,5см³ розчину борної кислоти при концентрації 0,2 моль/дм³, 6,5см³ розчину тетраборату натрію при концентрації 0,05 моль/дм³, а потім дистильованою водою обсяг доводили до мітки

Поляризація 0,3см³ сироватки крові збігалася до вміщення в пробірку Еппендорфа 0,3см³ буферного розчину та перемішування

Після поляризації й дегазації аналізату на центрифугі протягом 4 хвилин зі швидкістю 3200 об/хв приготувляли робочий форетичний розчин з раніш поляризованої пробі шляхом десятикратного зменшення її концентрації дистильованою водою

На ділянці між пробіркою з пробою, як форетичним середовищем, і анодом встановлювали капілярну трубку, а за нею розміщували пробірку з електролітом. Перед підведенням електричного живлення (близько 20кВ) в порожнині капіляра утворювали тиск біля 30мБар, що сприяло потраплянню аналізату в замальовану перетин капілярної трубки. Після комутації ланцюгів живлення нейтральні молекули рибоксину під впливом електричного струму рухались до анода у форетичному середовищі крізь капіляр. На довжині хвилі детектора 254нм, що контактував із капілярною труб-

кою, визначали оптичну щільність вмісту. Сигнал з приладу надходив до комп'ютера та відбивався у вигляді електрофореграми, що характеризувався наявністю амплітудних спалахів присутніх домішок у вигляді піків кривої, з прямопропорційною залежністю до їх концентрацій в аналізаті. На фоні сигналів присутніх домішок сигнали фракцій рибоксину були ідентифіковані по терміну виходу в межах 5,00 - 5,25 хвилин. Шляхом зіставлення площ піків електрофореграми з каліброваними лічильними площинами стандартних концентрацій рибоксину визначали його концентрацію у відібраній сироватці крові. Програмне забезпечення «Мультіхром» з комп'ютером забезпечували обчислення та обробку вихідних даних

Загальна межа виявлення рибоксину (чутливість) у пробі сироватки крові становила 30нг/мл, його екстракція сягала 100%, час виходу - 5 хв, а термін аналізу - 7 хв

Отже, на прикладі конкретного використання об'єкта доведена можливість відтворення процесу, пов'язаного з визначенням концентрації рибоксину у сироватці крові, який шляхом капілярного електрофорезу забезпечив технологічно сприйнятливую чутливість визначення та ступінь екстракції шуканого агента. Використання об'єкту науково-дослідними лабораторіями медичних підприємств допоможе своєчасно корегувати вміст даного фармакологічного засобу в крові

Таблиця

Техніко-економічні характеристики способу визначення концентрації рибоксину в сироватці крові шляхом капілярного електрофорезу

Показники та одиниці виміру	Заявлене рішення задачі
Чутливість визначення рибоксину в пробі, нг/мл	30
Ступінь екстракції рибоксину, %	100
Загальна тривалість підготовки пробі, хв	7
Термін аналізу, хв	7
Термін виходу рибоксину, хв	5
Загальна вартість обладнання, ум од	11000



УКРАЇНА

(19) UA (11) 45915 (13) A

(51) B 01N30/00, G01N33/15

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ЕУФІЛІНУ У СІРОВАТЦІ КРОВІ ШЛЯХОМ КАПІЛЯРНОГО ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ

1

(21) 2001117811

(22) 15.11.2001

(24) 15.04.2002

(46) 15.04.2002, Бюл. № 4, 2002 р.

(72) Дроздов Олексій Леонідович, Вяткін Олександр Костянтинівич, Дзяк Георгій Вікторович, Маматов Валерій Петрович, Рудько Андрій Миколайович, Варченко Віталій Григорович

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ, ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА СЕРТИФІКАЦІЇ

(57) 1 Спосіб визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові шляхом капілярного електрофорезу, який відрізняється тим, що приготують перший, другий та третій буферні розчини, змішують пробу після фільтрації з третім буферним розчином, центрифугують зі швидкістю 2000-6000 об/хв протягом 2-6 хв, розміщують капілярну трубку між пробою та другим буферним розчином як електролітичним середовищем, з можливістю підтримки внутрішнього тиску в порожнині капілярної трубки на рівні 30 бар протягом 15 сек, підводять до проби та другого буферного розчину потенціали високовольтного джерела напругою 20

2

кВ, комутують ланцюги живлення, реєструють оптичну щільність проби під час її переміщення в капілярній трубці, ідентифікують та визначають вміст еуфіліну шляхом перетворення реєстраційних даних в аналоговий сигнал

2 Спосіб визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові шляхом капілярного електрофорезу за п. 1, який відрізняється тим, що при приготуванні першого буферного розчину змішують борну кислоту, тетраборат натрію та воду дистильовану у співвідношенні об'ємних частин 5,5 6,5 38,0 см³

3 Спосіб визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові шляхом капілярного електрофорезу за п. 1, який відрізняється тим, що при приготуванні другого буферного розчину до першого буферного розчину додають додецилсульфат натрію та воду дистильовану у співвідношенні об'ємних частин 25 10 15 см³

4 Спосіб визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові шляхом капілярного електрофорезу за п. 1, який відрізняється тим, що при приготуванні третього буферного розчину до другого буферного розчину додають воду дистильовану у співвідношенні об'ємних частин 1 10 см³

Винахід відноситься до досліджень або аналізу матеріалів шляхом розділення на складові частини та досліджень медичних препаратів і може бути використаний в медицині

Рівень техніки, який досліджений заявником, інформує про відсутність об'єктів, що мають відношення до визначення вмісту еуфіліну в сироватці крові або до засобів визначення амінокислот, амінофіліну, аммофіліну, діафіліну, гемофіліну, метафіліну, неофіліну, як синонімів шуканого агента [1]

На підставі відсутності співпадінь призначення відомих об'єктів, до важливіших характеристик яких належать середовище, що утримує фракції (сироватка крові), функція (визначення концентрації) і конкретний вид матеріалу (еуфілін) можливо

стверджувати про відсутність аналогів для винаходу, що заявляється

У основу винаходу поставлена задача розробити спосіб визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові, який шляхом капілярного електрофорезу забезпечує технологічно сприйнятливую чутливість і ступінь екстракції шуканого агента при використанні

Поставлена задача вирішується тим, що, згідно з винаходом, спосіб визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові шляхом капілярного електрофорезу, характеризується тим, що приготують перший, другий та третій буферні розчини, змішують пробу після фільтрації з третім буферним розчином, центрифугують зі швидкістю 2000 - 6000 об/хв протягом 2 - 6 хв, розміщують

капілярну трубку між пробю та другим буферним розчином, як електролітичним середовищем, з можливістю підтримки внутрішнього тиску в порожнині капілярної трубки на рівні 30 бар протягом 15 сек, підводять до пробі та другого буферного розчину потенціали високовольтного джерела напругою 20кВ, комутують ланцюги живлення, реєструють оптичну щільність пробі під час її переміщення в капілярній трубці, ідентифікують та визначають вміст еуфіліну шляхом перетворення реєстраційних даних в аналоговий сигнал, при умові, що при приготуванні першого буферного розчину змішують борну кислоту, тетраборат натрію та воду дистильовану у співвідношенні об'ємних частин 5,5 6,5 38,0 см³, при приготуванні другого буферного розчину до першого буферного розчину додають додецилсульфат натрію та воду дистильовану у співвідношенні об'ємних частин 25 10 15 см³, при приготуванні третього буферного розчину до другого буферного розчину додають воду дистильовану у співвідношенні об'ємних частин 1 10 см³.

Виготовлення буферних розчинів дозволяє отримати та підготувати форетичне й електролітичне середовища до експлуатації, забезпечити динамічне переміщення аналізата в порожнині капіляру, виявлення кількісних часток фракції, що підлягають реєстрації. Центрифугування пробі переслідє дегазацію сироватки крові для безпешкодиного потрапляння в порожнину капілярної трубки та подальшого переміщення. При центрифугуванні пробі зі швидкістю менше 2000 об/хв дегазація аналізату може стати не ефективною, а при швидкості понад 6000 об/хв - пробірка Еппендорфа з пробю часто не витримує зусиль центробіжних навантажень. Центрифугування пробі протягом менше 2 хв також характеризується замалою дегазацією, а використання більш тривалого терміну центрифугування, наприклад понад 6 хв - недоцільно технологічно та вважається межею досягнення ефекту. Змішування пробі з третім буферним розчином передбачає поляризацію еуфіліну в електрофоретичному середовищі, завдяки стійкому зв'язку з зарядженими мицелами додецилсульфату натрію, а від того - під впливом електричного поля забезпечує міграцію часток еуфіліну в бік до аноду чи електроліту. Розміщення капілярної трубки між пробітками з пробю та другим буферним розчином, як електролітичним середовищем, разом із високовольтним джерелом напруги та ланцюгами живлення відтворює капілярний електрофорез, тобто - умови переміщення розділених часток фракції для остаточної ідентифікації та визначення. Підтримка тиску в капілярній трубці на рівні 30 мБар при експозиції 15 сек дозволяє вийти форетичному середовищу, функцію якого придбає проба, до порожнини капіляру, та оптимізувати чутливість детектора під час ідентифікації фракцій еуфіліну. Відхилення від цієї умови недоцільно, бо при зменшенні експозиції підтримки тиску в капілярі можливо погіршення чутливості детектора з умовами ідентифікації еуфіліну, а при збільшенні - стримується ввід аналізата в капіляр, а від так - відбувається спотворення реєстрації. Використання високовольтного джерела напругою 20 кВ зумовлює необхідну

швидкість руху часток пробі в капілярній трубці під час відтворення форетичного процесу. В разі зниження напруги джерела живлення збільшується термін виходу аналізата, а при підвищенні - спотворюються результати ідентифікації та визначення концентрації шуканого агента в пробі. Між тим, реєстрація оптичної щільності еуфіліну, активовані молекули якого рухаються крізь капілярну зону у вигляді форетичного середовища, з подальшим перетворенням даних в аналоговий сигнал, дозволяє визначити концентрацію аналізата в пробі сироватки крові.

Досягнення означеного вище технічного результату додатково зумовлене утримуванням першим буферним розчином борної кислоти, тетрабората натрію та води дистильованої в технологічно прийнятному співвідношенні об'ємних частин 5,5 6,5 38,0 (см³), бо має вплив на поляриність форетичного середовища. При цьому, утримування першого буферного розчину у другому, у вигляді суміші з додецилсульфатом натрію та водою дистильованою при технологічно прийнятному співвідношенні об'ємних частин 25 10 15 (см³) активує форетичний рух нейтральних молекул еуфіліну в капілярній трубці, оскільки регулює зв'язок останніх з зарядженими мицелами додецилсульфата натрію при міграції до анода. Зниження кількості додецилсульфата натрію в розчині, як електролітичному середовищі, може погіршити активність власних мицел, а завищена присутність виснажує електролітичний носій при використанні. Між тим, розбавлення другого буферного розчину водою дистильованою у співвідношенні 1 10 оптимізує чутливість ідентифікації та детектування оптичної щільності та є найбільш оптимальним. Так, при збільшенні концентрації пробі, виникають переважно помилки ідентифікації еуфіліну з-поза не досить стабільного виходу фракцій, перехід у потраплянні цього робочого розчину в порожнину капіляру крізь замалий геометричний перетин при міграції до аноду, а при зменшенні концентрації - погіршуються міграційні можливості виділених фракцій, фізичні властивості форетичного середовища, виснажується робоче середовище, як чинники низького коефіцієнту корисної дії форетичного процесу. Отже, буферні суміші поляризують пробю сироватки крові з наданням їй форетичних властивостей, які при відтворенні капілярного електрофорезу забезпечують рішення поставленої задачі.

Сукупність наданих ознак відбиває технологічні умови ідентифікації, реєстрації та визначення концентрації еуфіліну в пробі, для яких вельми характерним вважається виключення необхідності додання зайвих домішок до пробі, яке має зв'язок з підвищенням ступені екстракції аналізата та чутливості при використанні.

Отже, сукупність відокремлюючих ознак заявленого об'єкта за наявності причинно-слідчих зв'язків з технічним результатом є істотною.

Для визначення концентрації еуфіліну у сироватці крові доцільно застосування промислової системи капілярного електрофорезу «Капель-103Р» (виробництва РФ), кварцового капіляру Ø 0,075 мм і довжиною 600 мм, ваг лабораторних 2 класу, мір маси, дозаторів піпеточних змінних об-

сяєв (5 - 50мм³, 50 - 200мм³, 200 - 1000мм³), pH метру, програмного забезпечення «Мультіхром» й комп'ютера мінімальної конфігурації

Допускається використання припадів і устаткування інших моделей з аналогічними або більш кращими метрологічними характеристиками

Допоміжні пристрої: центрифуга (на 2000 - 6000об/хв), пробірки одноразові типу Еппендорфа, місткістю 1,5см³, фільтри целюлозно-ацетатні, з діаметром пір від 20мкм, насадки фільтра

Реактиви: вода дистильована, додецилсульфат натрію, борна кислота, натрій тетраборнокислий, з молярною концентрацією еквівалентів не менше 0,1 моль/дм³

Спосіб визначення концентрації еуфіліну у сироватці крові виконують у наступній послідовності

Заздалегідь приготують перший, другий та третій буферні розчини

Перший буферний розчин формують шляхом змішування борної кислоти, тетрабората натрію та води дистильованої, другий - шляхом додання до першого буферного розчину додецилсульфата натрію та води дистильованої, третій - розчиненням другого буферного розчину водою дистильованою, при технологічно сприйнятливих співвідношеннях масових частин інгредієнтів буферів

Після фільтрації проби відібраної сироватки крові до неї додають третій буферний розчин і дегазують шляхом центрифугування у заданому технологічному режимі. Між пробю та електролітичним середовищем, функцію якого виконує другий буферний розчин, встановлюють капілярну трубку, забезпечують її порожнини необхідний режим внутрішнього тиску та підводять потенціали високовольтного живлення. Після комутації електричних ланцюгів нейтральні молекули еуфіліну мігрують від власної пробірки до пробірки з другим буферним розчином крізь капілярний провідник, внаслідок взаємодії із зарядженими мицелами додецилсульфата натрію під впливом електричного струму. За допомогою детектора, що розміщений впритул до капіляра, ідентифікують та реєструють оптичну щільність фракцій еуфіліну шляхом перетворення даних в аналоговий сигнал та визначають вміст еуфіліну в пробі

Тож, спосіб дозволив шляхом капілярного електрофорезу визначити концентрацію аналізата в пробі, а разом із цим - забезпечити технологічно сприйнятливий ступінь екстракції аналізата і чутливість детектування, в тій мірі, що вважається ефективною для подальшого терапевтичного втручання та коректування станів

Додатково запропонованому способу притаманні висока економічність та низький термін визначення вмісту аналізата, відсутність необхідності використання домішок для примусового виділення фракцій еуфіліну, переважно токсичних, простота відтворення тощо

Для перевірки технічного результату, що досягається, на прикладі конкретного використання в пробі сироватки крові людини визначали концентрацію еуфіліну в наступній послідовності

Для виготовлення першого буферного розчину у мірну колбу місткістю 50см³ додавали 5,5см³

розчину борної кислоти при концентрації 0,2 моль/дм³, 6,5см³ розчину тетрабората натрію при концентрації 0,05 моль/дм³ а потім обсяг доводили до мітки дистильованою водою

Другий буферний розчин складали шляхом вміщення до мірної колби місткістю 50см³ першого буферного розчину у обсязі 25см³ та розчину додецилсульфата натрію при його концентрації 0,2моль/дм³ 10см³, з наступним доведенням обсягу дистильованою водою до мітки

Термін зберігання розчинів в судинах з поліетилену складав 1 місяць

Безпосередньо перед вимірюваннями, другий буферний розчин розбавляли водою дистильованою у співвідношенні 1 - 10

Для підготовки пробі до аналізу її фільтрували через целюлозно-ацетатний фільтр, заздалегідь промитий дистильованою водою. У пробірку Еппендорфа відбирали 0,3см³ сироватки крові й додавали 0,3см³ третього буферного розчину, перемішували та дегазували на центрифугі протягом 5 хв зі швидкістю 4000 об/хв. Під впливом першого буферного розчину фракції еуфіліну поляризувалися, а суміш набувала властивості форетичного середовища

Між пробірками з пробю та другим буферним розчином, як електролітичним середовищем, встановлювали капілярну трубку. Перед підведенням до них потенціалів високовольтного джерела напругою 20кВ, в порожнині капіляра протягом 15 сек утворювали тиск, що дорівнював 30 мБар дискретно. Після комутації ланцюгів електричного живлення нейтральні молекули еуфіліну під рухалися до аноду у форетичному середовищі крізь капіляр. На довжині хвилі детектора 254нм, що контактував із капілярною трубкою, ідентифікували фракції еуфіліну в пробі сироватки крові та визначали його концентрацію шляхом перетворення оптичної щільності потоку в аналоговий сигнал й обчислення за допомогою програмного забезпечення «Мультіхром» на комп'ютері

Сигнал з приладу надходив до комп'ютера та відбивався у вигляді електрофореграми. Побудова градієнтовочної залежності, з використанням значень шуканого агента між верхньою та нижньою межами виявлення, визначення площ піків заданої концентрації дозволили визначити концентрацію еуфіліну в пробі

Загальна межа виявлення еуфіліну (чутливість) в пробі сироватки крові сягала 30нг/мл, його екстракція становила 100%, час виходу - 5 хв, а термін аналізу - 7 хв

Отже, на прикладі конкретного використання об'єкта вперше доведена можливість визначення концентрації еуфіліну в сироватці крові. Використання запропонованого високорентабельного способу науково-дослідними лабораторіями медичних підприємств допоможе, окрім забезпечення технологічно сприйнятливої чутливості та ступіні екстракції еуфіліну, своєчасно коригувати його вміст в крові людини на підставі високоточних результатів дослідження



УКРАЇНА

(19) UA (11) 49173 (13) A

(51) 6 C07K14/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ТРИС-ГІДРОЦИСТЕЇНАТ ХРОМУ (III), ЩО МАЄ ГІПОГЛІКЕМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ

1

(21) 2001042385

(22) 10 04 2001

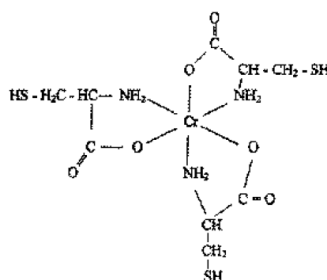
(24) 16 09 2002

(46) 16 09 2002, Бюл. № 9, 2002 р

(72) Чернушенко Олена Олександрівна, Зегжда
Георгій Дмитрович, Вінченко Ія Григорівна, Дроз-
дов Олексій Леонідович, Доронін Олександр Ге-
оргійович(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ, ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВ-
НА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

(57) Трис-гідроцистеїнат хрому (III)

2



що має гіпоглікемічні властивості

Винахід відноситься до нової хімічної сполуки - трис-гідроцистеїнату хрому (III), який проявляє гіпоглікемічну дію, що передбачає можливість його застосування в медичній практиці як лікарський препарат.

З метою лікування різних форм цукрового діабету використовуються препарати інсуліну і синтетичні сахарознижуючі засоби для перорального застосування - похідні сульфамілмочевини (бутамід, цикламід, хлорцикламід) і бугуаніди (глібутід, глібенкламід). Властиві цим препаратам недоліки, в тому числі необхідність використання парентерального шляху введення (інсуліни), можливість появи шкіряно-алергічних, диспептичних порушень і токсичного впливу на кістковий мозок і паренхіматозні органи (пероральні сахарознижуючі засоби) обумовлюють необхідність пошуку альтернативних гіпоглікемічних препаратів [1 - 4]. Відомо, що солі хрому (III) можуть впливати на функціонування печінки, підшлункової залози і на вуглеводний обмін. Ця група сполук спричиняє перевернування глікемічної кривої і галактозурію після навантаження галактозою, що дозволяє розглядати їх як потенційні сахарознижуючі препарати [5, 6].

У роботах [7 - 9] встановлено, що при введенні хрому (III), - особливо його органічних комплексних сполук - гліцинату хрому (III), нікотінату хрому (III) - покращується засвоєння глюкози тканинами. Встановлено, що введення гліцинату хрому (III) знижує рівень цукру крові при введенні гліцинату хрому (III) на 49%, а нікотінату хрому (III) - на 34%.

Гліцинат хрому (III), який одержали взаємодією гідроксиду хрому (III) з гліцином, має вихід 38%, а нікотінат хрому (III), який одержали взаємодією гідроксиду хрому (III) з ніотиновою кислотою - 64%.

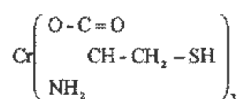
В [10] показана роль змішаннолігандної комплексної сполуки хрому (III) з ніотиновою кислотою, метіоніном та гліцином, яка має властивості покращувати засвоєння глюкози тканинами. Встановлено, що ефективність впливу цієї змішаннолігандної комплексної сполуки вища за ефективність неорганічних солей хрому (III) (рівень зниження цукру крові 38%). Результати полярографічних досліджень взаємодії хрому (III) та інсуліну з мітохондріями підтвердили, що трьохвалентний хром діє на клітинному рівні та утворює комплексні сполуки з інсуліном. Змішаннолігандний комплекс, що одержали взаємодією хрому (III) з ніотиновою кислотою, метіоніном та гліцином, має вихід продукту 67%.

В літературі описані цистеїнати хрому (III) складу $K[Cr(HCys)_2Cl_2] \cdot 2H_2O$, $K_3[Cr(H_2Cys)_4Cl_2]$ [11], $[Cr(Cys)_2OH(H_2O)] \cdot H_2O$ [12], $Na[Cr(Cys)_2] \cdot 2H_2O$ [13, 14], однак всі вони є комплексними сполуками аніонного типу, розчини яких мають лужну реакцію. Вихід продукту складає 24 - 56%. Відомостей про дослідження гіпоглікемічних властивостей цистеїнатів хрому (III) в літературі немає.

Дослідження нових сполук, яким притаманні гіпоглікемічні властивості є актуальною задачею медицини та хімії.

Задачею винаходу є розробка нової нетоксич-

ної комплексної сполуки, яка володіє гіпоглікемічними властивостями. Задача вирішується синтезом трис-гідроцистеїнату хрому (III), що вміщує 11,2% хрому (III), загальною формулою



Сполука, що заявляється, в літературі не описана і являє собою внутрікомплексну сіль трис-гідроцистеїнату хрому(III).

Для синтезу запропоновано спосіб, що полягає у взаємодії гідроксиду хрому(III) з цистеїном. Вихід продукту 50%.

Приклад. До свіжеосажденного гідроксиду хрому(III) (2 ммоль) додавали наважку цистеїна (6 ммоль) та 20 мл води і нагрівали, на водяній бані протягом однієї години, періодично помішуючи. При цьому осад майже повністю розчинявся, а розчин придбав червоно-фіолетовий колір. Розчин відфільтровували від невеликої кількості нерозчинного гідроксиду хрому(III), фільтрат упарювали до третини первинного об'єму і залишали кристалізуватися на повітрі. Червоно-фіолетовий осад, що випав, промивали спиртом, ефіром і сушили над хлористим кальцієм до постійної ваги. Вихід сполуки складав біля 50%. Структуру і склад сполуки, що заявляється підтверджено елементним аналізом та аналізом параметрів ІЧ, електронної спектроскопії, кондуктометрії, рентгенофазового аналізу.

Речовина синтезована вперше і раніше не описана.

Методи дослідження: Елементний аналіз речовини проводили на аналізаторі фірми "Carlo Erbe", а хрому - фотометричним методом з діфенілкарбазидом.

Знайдено, %: Cr -11.12; 11.20; 11,21; N - 9.00; 9.04; 9,02; H - 4.88; 4.56; 4,97.

Для складу: $[\text{Cr}(\text{HCys})_3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (CrC9N3O9H24) обчислено, %: Cr -11.16; N - 9.01; H - 5.15.

Рентгенофазовий аналіз, проведено на рентгенівському дифрактометрі ДРОН -2.0 при $T=300^\circ\text{C}$. Трис-цистеїнату хрому (III) знаходиться частково в полікристалічному стані (20 = 27; 32; 36; 46). ІЧ спектр (KBr) характеризується смугами поглинання координованих аміно- і карбоксильної груп см-1: 3070; 3190; 496; 1612; 1370; 570, і некоординованої меркаптогрупи 2530.

Біологічна активність синтезованої речовини досліджувався вплив препарату на рівень цукру в крові білих пацюків при навантаженні глюкозою.

Дослідження проведено на дорослих щурах - самцях лінії Вістар масою 250 -290г. Експериментальну гіперглікемію моделювали шляхом внутрішньошлункового введення 40% розчину d-глюкози в дозі 1600 мг/кг. Проби крові для виміру концентрації глюкози брали із хвостових судин у вихідному стані та через 60 хв після введення глюкози у шлунок. Після цього

тваринам дослідної групи внутрішньоочеревинно вводили розчин цистеїнату хрому в дозі 1 мг/кг, а контрольним тваринам - еквівалентний об'єм ізотонічного розчину хлориду натрію. Подальші проби крові у тварин брали через 120, 180 і 240 хвилин після введення глюкози. Концентрацію глюкози в крові вимірювали за допомогою тест-системи ONE TOUCH BASIC виробництва LifeScan, Geschäftsbereich der Ortho Diagnostic Systems GmbH. Результати дослідження статистично обраховані за допомогою параметричного t-критерію Стюдента [15].

1. Результати дослідження. Результати дослідження наведено в таблиці.

Таблиця.

№ п/п	Серія досліджень	хв	Кількість тварин	Концентрація глюкози,
1.	Вихідний стан		9	60,44 (2,37
2.	Вуглеводне навантаження	60	9	74,33 (4,09**
3.	Фізіологічний	120	4	81,50(6,03
4.	Цистеїнату хрому	120	5	44,60 (3,85*
5.	Фізіологічний	180	4	76,50 (5,49
6.	Цистеїнату хрому	180	5	49,80 (6,36*
7.	Фізіологічний	240	4	73,75 (5,98
8.	Цистеїнату хрому	250	5	51,80(7,85*

* - $p < 0,05$ порівняно до контролю; - $p < 0,05$ порівняно до вихідного стану.

Як видно з таблиці, після введення розчину глюкози в шлунок її концентрація в крові збільшувалась на 23-25% порівняно з вихідною і в групі контрольних тварин зберігалась на підвищеному рівні на протязі більше 4 годин. Через 60 хвилин після внутрішньоочеревинного введення розчину трис-гідроцистеїнату хрому(III) в дозі 1 мг/кг концентрація глюкози в крові піддослідних щурів зменшилась і становила менше 55% порівняно з контролем. У подальшому, концентрація глюкози в крові тварин дослідної групи на протязі години досліді, порівняно з контролем, залишалась низькою. У групі контрольних щурів на протязі 4 годин після вуглеводного навантаження спостерігалась гіперглікемія.

Отримані результати показують, що трис-гідроцистеїнату хрому(III) при внутрішньоочеревинному введенні в дозі 1 мг/кг викликає істотне зменшення концентрації глюкози в крові білих щурів. Доцільне подальше дослідження трис-гідроцистеїнату хрому(III) як гіпоглікемічного чинника, особливо при пероральному вживанні.

Відмінними ознаками запропонованого об'єкта являється вищий показник зниження цукру в крові, також доступність та простота синтезу цільового об'єкта та вищий вихід продукту, pH середовища 4.8 - 5 .



УКРАЇНА

(19) UA (11) 49751 (13) A

(51) 6 G01N30/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ТЕТРАПЕПТИДНОГО С-КІНЦЕВОГО ФРАГМЕНТА ВАЗО-
ПРЕСИНУ У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ

1

(21) 2002054168

(22) 22 05 2002

(24) 16 09 2002

(46) 16 09 2002, Бюл. № 9, 2002 р

(72) Дроздов Олексій Леонідович, Дзяк Георгій
Вікторович, Маматов Валерій Петрович, Вяткін
Олександр Костянтинович

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА

2

АКАДЕМІЯ, ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ
ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА СЕР-
ТИФІКАЦІЇ(57) Використання способу визначення вмісту ри-
боксину як способу визначення концентрації тет-
рапептидного С-кінцевого фрагмента вазопресину
у водному розчині

Винахід відноситься до досліджень або анали-
зу матеріалів, здебільшого шляхом розділення їх
на складові частини, та може бути використаним в
дослідженнях біохімічних і контрольно-аналітичних
лабораторій фармацевтичних підприємств

Відомий спосіб визначення складу лікарської
форми, що включає розділення суміші хромато-
графічним шляхом, наприклад високоефективною
рідинною хроматографією, при кімнатній темпера-
турі в градієнтному режимі, з використанням мета-
нолу у фосфатному буфері для регенерації колонки
та наступного визначення водорозчинних віта-
мінів і кальцію пантотенату при довжинах хвиль
аналізатора 260 та 210 нм, відповідно, принаймні
тричі [1]

Особливістю відомого способу є використання
метанолу для розділення фракцій суміші на скла-
дові частини

Але використання відомого способу дещо ви-
кривляє кінцеві результати, особливо при визна-
ченні концентрацій важко ідентифікуємих фракцій,
наприклад тетрапептидного С-кінцевого фрагмен-
та вазопресину (IOS-3124)

Це зумовлене низькими рівнями екстракції і
поляризації виділених фракцій у водних розчинах,
замалою експозицією між періодами їх утримання,
погіршенням чутливості до них з боку засобів де-
тектування, внаслідок застосування метанолу як
зайвої домішки

З рівня техніки, який встановлений заявником
витає, що найефективнішим з цього приводу є
капілярний електрофорез [2], але специфічність
переважною кількості фармацевтичних препаратів
стримує межі його використання

В основу винаходу поставлено задачу розро-
бити такий спосіб визначення концентрації тетра-
пептидного С-кінцевого фрагмента вазопресину у
водному розчині, який шляхом капілярного елект-
рофорезу підвищує вірогідність кінцевого резуль-
тату та розширює номенклатуру препаратів при
використанні

Вищезазначена задача досягається викорис-
танням способу визначення вмісту рибоксину впе-
рше як способу визначення тетрапептидного С-
кінцевого фрагмента вазопресину у водному роз-
чині, що відповідає критеріям «новизна» та «вина-
хідницький рівень»

На фігурі зображена крива, що доводить мож-
ливість виділення та визначення концентрації IOS-
3124 у водному розчині

Спосіб визначення вмісту рибоксину, при ви-
користанні як способу визначення концентрації
тетрапептидного С-кінцевого фрагмента вазопре-
сину у водному розчині, характеризується поляри-
зацією проби буферною сумішшю при співвідно-
шенні масових частин 1:1 в пробі, як форетичним
середовищем, дегазацією, детектуванням оптич-
ної щільності при довжині хвилі аналізатора 254
нм під час міграції іонів в порожнині капіляру до
аноду, отриманням електрофореграми, обчислен-
ням площин піків останньої та перетворенням під-
сумкового результату в показник кількісного вмі-
сту

Буферна суміш утворює форетичне середо-
вище, в якому іонізуються частки. Поляризація
розчину активує нейтральні молекули останнього
завдяки встановленню зв'язків із зарядженими
частками буферу, сприяє розділенню складових

частин та їх ідентифікації у подальшому. Дегазація надає пробі можливість безпечного потрапляння до порожнини капіляру та істотно впливає на зменшення викривлення результатів при визначенні вмісту шуканого агента. При збільшенні присутності буфера в пробі спостерігається зниження чутливості детектора, а при зменшенні - виснаження електроліту, погіршення заряду форетичного середовища, інтенсивності поляризації фракцій тетрапептидного С-кінцевого фрагменту вазопресину, різкому зниженню кількості останніх і призводить до викривлення очікуваних результатів. Детектування оптичної щільності при довжині хвилі 254 нм пов'язане із забезпеченням оптимальної чутливості пристрою при ідентифікації проби. Реєстрація її оптичної щільності під час міграції активованих молекул крізь капіляр забезпечує ідентифікацію та визначення присутнього вмісту визначаємих фракцій без залучення зайвих домішок, необхідних для відтворення виміру вмісту сполук при застосуванні методу рідинної хроматографії. Побудова електрофореграми за допомогою програмного забезпечення надає змогу провести аналогово-цифрову обробку результатів у подальшому та визначити концентрацію виділених фракцій IOS-3124 у водному розчині.

Тож, за рахунок виключення необхідності застосування зайвих хімічних домішок при відтворенні капілярного електрофорезу оптимізується ступень екстракції інгредієнтів, підвищується рівень поляризації та зростає час експозиції між періодами утримання речовини в розчині та чутливість, особливо до важко ідентифікуємих фракцій тетрапептидного С-кінцевого фрагмента вазопресину, що, більш за все, призводить до підвищення більше ніж на 30% вірогідності кінцевого результату, розширює номенклатуру досліджуваних препаратів і знижує викривлення результатів вимірів при використанні.

Визначення концентрації IOS-3124 у водному розчині здійснюється за умовами Пат. №45280 України.

Приклад. Спосіб визначення концентрації IOS-3124 у водному розчині виконували у наступній послідовності:

До експериментального водного розчину IOS-3124 додавали буфер, у співвідношенні 1:1. Під час капілярного електрофорезу нейтральні молекули IOS-3124 мігрували до аноду крізь капіляр завдяки взаємодії із зарядженими молекулами форетичного середовища. За допомогою детектора ідентифікували та реєстрували оптичну щільність IOS-3124, а шляхом перетворення отриманих даних в аналоговий сигнал визначали вміст аналізу в пробі. Детектування оптичної щільності фракцій проби здійснювали при довжині хвилі аналізатора 254 нм. Протягом експерименту контролювали масштаб електрофореграми, який забезпечив сприйняття замалих концентрацій IOS-3124. Програмне забезпечення «Мультіхром» забезпечувало обробку сигналів, побудову електрофореграми, що відбита на фігурі, обчислення площ піків виділених фракцій IOS-3124 і перетворення підсумкового результату у показник їх кількісного вмісту в пробі. Залежність часу виходу та значення площини піка від концентрації IOS-3124 свідчить (див. Табл. №1), що технологічна чутливість засобу детектування обладнання «Капель-103Р» є технологічно сприйнятливою для здійснення способу.

Отже, приклад використання способу доводить можливість використання способу визначення концентрації рибоксину як способу визначення концентрації тетрапептидного С-кінцевого фрагмента вазопресину у водному розчині в біохімічних і контрольно-аналітичних лабораторіях фармацевтичних підприємств. Найбільш вагома властивість способу полягає в тому, що він майже на 30% посилює вірогідність кінцевого результату, у порівнянні з рідинною хроматографією, а в капілярному електрофорезі розширює номенклатуру досліджуваних препаратів і межі використання прототипу. Тим самим знижується викривлення вимірювальних результатів, підвищуються ступень екстракції фракцій, рівень поляризації, час експозиції між періодами утримання виділених часток, тощо.

Тож, запропоноване рішення задачі відповідає умови «промислової придатності».

Таблиця №1

Концентрація IOS-3124, мкг/кг	Час виходу IOS-3124, сек	Площа вихідного піка, мА·сек
50,000	328	2,633
25,000	340	1,852
12,500	349	1,034
6,250	345	0,535
3,060	346	0,255
0,375	395	0,072

Джерела інформації

1 Спосіб определения состава лекарственной формы. Заяв. 97106926 РФ, МПК G01N33/52 / Г.С. Малолеткина (РФ) - №97106926/14, Заявл. 25.04.97, Опубл. 20.04.99.

2 Спосіб визначення вмісту рибоксину у водному розчині. Пат. №45280 України, МПК G01N 30/00 / Ю.Л. Дроздов, Г.В. Дзяк, О.К. Вяткін, В.П. Маматов, В.Г. Варченко, А.М. Рудько (Україна) - №2001107281, Заявл. 25.10.01, Опубл. 15.03.02.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 49752 (13) A

(51) 6 G01N30/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ПЕНТАПЕПТИДНОГО АНАЛОГА ВАЗОПРЕСИНУ У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ

1

(21) 2002054169

(22) 22 05 2002

(24) 16 09 2002

(46) 16 09 2002, Бюл. № 9, 2002 р

(72) Маматов Валерій Петрович, Дзяк Георгій Вікторович, Дроздов Олексій Леонідович, Вяткін Олександр Костянтинович

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА

2

АКАДЕМІЯ, ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА СЕРТИФІКАЦІЇ

(57) Використання способу визначення вмісту рибоксину як способу визначення концентрації пентапептидного аналога вазопресину у водному розчині

Винахід відноситься до досліджень або аналізу матеріалів, здебільшого шляхом розділення їх на складові частини, і може бути використаним в дослідженнях біохімічних і контрольно-аналітичних лабораторій фармацевтичних підприємств

Пентапептидний аналог вазопресину являє нейроростовий фактор послідовності 52-57, що позбавлений фенілаланіну у 54 положенні

Відомий спосіб визначення складу лікарської форми, що включає розділення суміші хроматографічним шляхом, наприклад вискоефективною рідинною хроматографією, при кімнатній температурі в градієнтному режимі, з використанням метанолу у фосфатному буфері для регенерації колонки та наступного визначення водорозчинних вміснів і кальцію пантотенату при довжинах хвиль аналізатора 260 та 210 нм, відповідно, принаймні тричі [1]

Особливою характеристикою відомого способу є використання метанолу для визначення концентрації досліджуваних агентів, що сприяє їх розділенню на складові частини

Але використання відомого способу дещо викривляє кінцеві результати, особливо при визначенні концентрацій важко ідентифікуємих фракцій, наприклад пентапептидного аналога вазопресину

Це зумовлене використанням метанолу, як зайвої домішки, а від того, низькими рівнями екстракції, поляризації, експозиції між періодами утримання виділених фракцій, які погіршують чутливість засобу детектування

З рівня техніки, який встановлений заявником, витікає, що капілярний електрофорез [2] є найбільш ефективним шляхом розділення фракцій

Але в лабораторній практиці, з-поміж специфічності хімічних сполук, особливо такої, як пентапептидний аналог вазопресину він не застосовувався

В основу винаходу поставлено задачу розробити такий спосіб визначення концентрації пентапептидного аналога вазопресину у водному розчині, який шляхом капілярного електрофорезу підвищує чутливість засобу детектування та розширює номенклатуру досліджуваних препаратів при використанні

Вищезазначена задача досягається використанням способу визначення вмісту рибоксину вперше як способу визначення концентрації пентапептидного аналога вазопресину у водному розчині, що відповідає критеріям «новизна» та «винахідницький рівень»

На фігурі зображена крива, що доводить можливість виділення та визначення концентрації концентрації пентапептидного аналога вазопресину у водному розчині шляхом капілярного електрофорезу

Визначення кількості пентапептидного аналога вазопресину у водному розчині здійснюється за умовами Пат №45280 України

Спосіб визначення вмісту рибоксину, при його використанні як способу визначення концентрації пентапептидного аналога вазопресину у водному розчині, включає поляризацію проби буферною сумішшю, дегазацію, детектування оптичної щільності на заданій хвилі аналізатора, під час міграції іонів в капілярі, обчислення площини піку на електрофореграмі та аналогово-цифрове перетворення результату в показник кількісного вмісту

Буферна суміш утворює форетичне середовище, в якому іонізуються частки пентапептидного аналога вазопресину. Поляризація проби активує нейтральні молекули аналізу, сприяє розділенню його складових частин та наступній ідентифікації. Дегазація забезпечує безперешкодливий потрапляння часток виділеного агенту до порожнини капіляру. Буферизація оптимізує чутливість детектора та запобігає виснаження електроду. При збільшенні присутності буфера в пробі спостерігається зниження чутливості детектора, а при зменшенні - виснаження електроду, погіршуються заряд форетичного середовища, інтенсивність поляризації часток пентапептидного аналога вазопресину. Детектування оптичної щільності задається довжиною хвилі аналізатора та має зв'язок із чутливістю ідентифікації проби. Реєстрація оптичної щільності проби під час міграції активованих молекул до аноду сприяє ідентифікації та визначенню кількісного вмісту, без залучення зайвих домішок. Побудова електрофореграми надає змогу розрахувати площину піку вихідного сигналу та визначити концентрацію пентапептидного аналога вазопресину у ваговій формі.

Тож, при використанні властивостей способу визначення вмісту рибоксину у способі визначення концентрації пентапептидного аналога вазопресину у водному розчині за рахунок виключення зайвих хімічних домішок у 4-5 разів підвищується чутливість, по відношенню до рідинної хроматографії, та поширюється номенклатура досліджуваних препаратів.

Додатково запропоноване рішення задачі оптимізує ступень екстракції, підвищує рівень поляризації, час експозиції між періодами утримання часток пентапептидного аналога вазопресину у водному розчині, що призводить до зниження викривлення результатів вимірів.

Визначення вмісту пентапептидного аналога вазопресину у водному розчині здійснюється за умовами Пат. №45280 України.

Приклад. Спосіб визначення концентрації пентапептидного аналога вазопресину у водному розчині виконували у наступній послідовності.

До експериментального водного розчину пен-

тапептидного аналога вазопресину у співвідношенні 1:1 додавали буфер. Під час капілярного електрофорезу нейтральні молекули пентапептидного аналога вазопресину мігрували до аноду крізь капіляр завдяки взаємодії із зарядженими молекулами форетичного середовища. За допомогою детектора ідентифікували та реєстрували оптичну щільність пентапептидного аналога вазопресину, а шляхом перетворення отриманих даних в аналоговий сигнал визначали вміст аналізу в пробі. Детектування оптичної щільності фракцій пентапептидного аналога вазопресину здійснювали при довжині хвилі аналізатора 254 нм. Протягом експерименту контролювали масштаб електрофореграми, який забезпечив сприйняття замалих концентрацій пентапептидного аналога вазопресину в пробі. Програмне забезпечення «Мультіхром» забезпечувало обробку сигналів, побудову електрофореграм, що відбиті на фігурі, обчислення площ піків виділених фракцій пентапептидного аналога вазопресину і перетворення підсумкового результату у показник їх кількісного вмісту в пробі. Залежність часу вихода та значення площини піка від концентрації проби пентапептидного аналога вазопресину свідчить (див. Табл. №1), що технологічна чутливість засобу детектування обладнання «Капель-103Р» є сприйнятливою для здійснення способу.

Тож, на прикладі конкретного використання способу доведена можливість використання капілярного електрофорезу вперше для визначення концентрації пентапептидного аналога вазопресину у водних розчинах із збільшенням чутливості у 4-5 разів, по відношенню до рідинної хроматографії, а в капілярному електрофорезі забезпечено поширення номенклатури досліджуваних препаратів і меж використання прототипу. Застосування запропонованого способу науково-дослідними та контрольно-аналітичними лабораторіями фармацевтичних підприємств допоможе досліджувати концентрації фрагментів нейроростового фактору послідовності 52-57, що позбавлений феніланіну у 54-му положенні, з високою імовірністю.

Отже, запропоноване рішення задачі відповідає умови «промислова придатність».

Таблиця №1

Концентрація АВП, мкг/кг	Час виходу АВП, сек	Площа піку, мА·сек	Чутливість визначення, нг/мл
1	2	3	4
25,000	337	1,257	20-25
12,500	334	0,540	
6,250	336	0,341	
3,125	334	0,134	
0,600	323	0,074	

Джерела інформації

1. Способ определения состава лекарственной формы. Заяв. 97106926 РФ, МДК G01N33/52 / Г.С. Малолеткина (РФ) - №97106926/14, Заявл. 25.04.97, Опубл. 20.04.99.

2. Спосіб визначення вмісту рибоксину у водному розчині. Пат. № 45280 України, МДК G01N 30/00 / О.Л. Дроздов, Г.В. Дзяк, О.К. Вяткин, В.П. Маматов, В.Г. Варченко, А.М. Рудько (Україна) - №2001107281, Заявл. 25.10.01, Опубл. 15.03.02.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 49753 (13) A

(51) 6 G01N30/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ЗАХИЩЕНОГО ГЕКСАПЕПТИДНОГО N-КІНЦЕВОГО ФРАГМЕНТА АРГІНІН-ВАЗОПРЕСИНУ У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ

1

(21) 2002054170

(22) 22 05 2002

(24) 16 09 2002

(46) 16 09 2002, Бюл. № 9, 2002 р

(72) Дзяк Георгій Вікторович, Дроздов Олексій Леонідович, Маматов Валерій Петрович, Вяткін Олександр Костянтинович, Стадніченко Олексій Аркадійович

2

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ, ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА СЕРТИФІКАЦІЇ

(57) Використання способу визначення вмісту рибоксину як способу визначення концентрації захищеного гексапептидного N-кінцевого фрагмента аргінін-вазопресину у водному розчині

Винахід відноситься до досліджень або аналізу матеріалів, здебільшого шляхом розділення їх на складові частини, та може бути використаним в дослідженнях біохімічних і контрольно-аналітичних лабораторій фармацевтичних підприємств

Відомий спосіб визначення складу лікарської форми, що включає розділення суміші хроматографічним шляхом, наприклад високоефективною рідинною хроматографією, при кімнатній температурі в градієнтному режимі, з використанням метанолу у фосфатному буфері при pH7, у наступних співвідношеннях 3% метанол - 1000мкл, з яких 20мкл застосовують на регенерацію колонки, 10,30 й 40% по 400мкл з наступним визначенням водорозчинних вітамінів при 260нм і кальцію пантотенату при 210нм, щонайменше 3 рази [1]

Особливою рисою відомого способу є використання метанолу, що сприяє розділенню фракцій суміші на складові частини

Проте використання відомого способу дещо викривляє кінцеві результати, особливо при визначенні концентрацій важко ідентифікуємих фракцій, наприклад захищеного гексапептидного N-кінцевого фрагмента аргінін-вазопресину

Необхідність використання метанолу, як зайвої домішки, зумовлює низькі рівні поляризації, екстракції та експозиції розділених фракцій, а від того, погіршує чутливість засобів їх ідентифікації, що викривляє значення дійсної концентрації препарату в розчині

З рівня техніки, який встановлений заявником, витікає, що більш ефективним шляхом розділення речовин у розчинах є капілярний електрофорез [2] При цьому, не зважаючи на високу об'єктивність

отримання кінцевих результатів, специфічність більшості відомих речовин стримує межі його використання в лабораторній практиці

В основу винаходу поставлено задачу розробити такий спосіб визначення концентрації захищеного гексапептидного N-кінцевого фрагмента аргінін-вазопресину у водному розчині, який шляхом капілярного електрофорезу підвищує кількісний вихід фракції та поширює номенклатуру досліджуваних препаратів при використанні

Вищезазначена задача досягається використанням способу визначення вмісту рибоксину вперше як способу визначення концентрації захищеного гексапептидного N-кінцевого фрагмента аргінін-вазопресину у водному розчині, що відповідає критеріям «новизна» та «винахідницький рівень»

На фігурі зображена крива, що доводить можливість виділення та визначення концентрації захищеного гексапептидного N-кінцевого фрагмента аргінін-вазопресину у водному розчині шляхом капілярного електрофорезу

Визначення вмісту N-кінцевого фрагмента аргінін-вазопресину у водному розчині здійснюється за умовами Пат. №45280 України

Спосіб визначення вмісту рибоксину, при його використанні як способу визначення концентрації захищеного гексапептидного N-кінцевого фрагмента аргінін-вазопресину (IOS-2703) у водному розчині, характеризується поляризацією проби буферною сумішшю, дегазацією, детектуванням її оптичної щільності під час міграції в порожнині капіляру до аноду, отриманням електрофореграми, обчисленням площини піку останньої та перетворенням кінцевого результату в показник кількісного вмісту

Буферна суміш являє форетичне середовище, в якому іонізуються частки IOS-2703. Поляризація розчину активує нейтральні молекули проби за наявності зв'язків із зарядженими частками буферу, що сприяє виділенню шуканої складової та її ідентифікації. Дегазація забезпечує безперешкодливе потрапляння проби в порожнину капіляру та впливає на зменшення викривлення результатів при визначенні дійсної концентрації аналізату. Буферизація проби має зв'язок з оптимізацією чутливості детектора та запобігає виснаженню електроліту, бо погиршення як інтенсивності поляризації фракцій IOS-2703, так і заряду форетичного середовища, призводить до викривлення значень дійсної концентрації. Реєстрація оптичної щільності проби під час міграції її активованих молекул крізь капіляр сприяє ідентифікації та визначенню кількісного вмісту, без залучення зайвих домішок. Побудова електрофореграми, що зображена на фігурі, надає змогу провести цифровий облік площини піку та визначити концентрацію IOS-2703 у водному розчині.

Тож, при капілярному електрофорезі за рахунок виключення зайвої хімічної домішки зростає рівень поляризації важко ідентифікуємих фракцій IOS-2703, оптимізується ступінь екстракції, підвищується час експозиції між періодами їх утримання та чутливість детектора, більш за все, на 20-30% збільшується кількісний вихід аналізату, поширюється номенклатура досліджуваних препаратів.

Відповідно з винаходом, додатково знижується викривлення результатів, підвищується вірогідність кінцевих результатів, виключаються систематичні й раптові помилки результатів вимірів при використанні.

Приклад. Спосіб визначення концентрації IOS-2703 у водному розчині виконували у наступній послідовності.

До експериментального водного розчину IOS-2703 у співвідношенні 1:1 додавали буфер. Під час

капілярного електрофорезу нейтральні молекули IOS-2703 мігрували до аноду крізь капіляр завдяки взаємодії із зарядженими молекулами форетичного середовища. За допомогою детектора ідентифікували та реєстрували оптичну щільність IOS-2703, а шляхом перетворення отриманих даних в аналоговий сигнал визначали вміст аналізату в пробі. Детектування оптичної щільності фракцій IOS-2703 здійснювали при довжині хвилі аналізатора 254 нм. Протягом експерименту контролювали масштаб електрофореграми, що забезпечило виявлення замалих концентрацій IOS-2703 в пробі. Програмне забезпечення «Мультіхром» забезпечувало обробку сигналів, побудову електрофореграми, що відбита на фігурі, обчислення площини піку виділених фракцій IOS-2703 і перетворення підсумкового результату у показник їх кількісного вмісту. Час виходу та значення площини піку IOS-2703 (див. Табл. №1), незалежно від концентрації останнього в пробі, дозволяють відзначити прийнятність технологічних можливостей способу визначення вмісту рибоксину для відтворення способу визначення концентрації захищеного гексапептидного N-кінцевого фрагмента аргінін-вазопресину у водному розчині на установці «Капель-103 Р».

Тож, прикладом конкретного використання доведена можливість застосування капілярного електрофорезу для визначення концентрації захищеного гексапептидного N-кінцевого фрагмента аргінін-вазопресину у водному розчині. Використання відомого способу для досліджень цього препарату, наприклад в біохімічних і контрольно-аналітичних лабораторіях фармацевтичних підприємств, у порівнянні з рідинною хроматографією, збільшує кількісний вихід IOS-2703 більше ніж на 20%, поширює номенклатуру досліджуваних препаратів і межі використання прототипу.

Отже, запропоноване рішення задачі відповідає умові «промислова придатність».

Таблиця №1

Концентрація IOS-2703, мкг/кг	Час виходу IOS-2703, сек	Площа вихідного піку, мА·с	Ступінь екстракції IOS-2703, %
1	2	3	100
50,00	332	2,504	
25,00	351	1,800	
6,25	350	0,236	
1,50	351	0,111	

Джерела інформації

1. Способ определения состава лекарственной формы. Заяв. 97106926 РФ, МПК G01N33/52 / Т.С. Малолеткина (РФ) - №97106926/14, Заявл. 25.04.97, Опубл. 20.04.99.

2. Спосіб визначення вмісту рибоксину у водному розчині. Пат. №45280 України, МПК G01N30/00 / О.Л. Дроздов, Г.В. Дзяк, О.К. Вяткин, В.П. Маматов, В.Г. Варченко, А.М. Рудько (Україна) - №2001107281, Заявл. 25.10.01, Опубл. 15.03.02.

Білозуб Володимир Володимирович

Народився 17 грудня 1951 року. Закінчив Дніпропетровський гірничий інститут за фахом гірничий-інженер-маркшейдер, Центральний інститут підвищення кваліфікації фахівців у справах патентознавства і винахідництва (м. Москва), Інститут інтелектуальної власності і права (м. Київ) за фахом патентознавець, атестований як патентний повірений України та зареєстрований у Держреєстрі України за № 280 за спеціалізацією: винаходи, корисні моделі, знаки для товарів і послуг, промислові зразки.

На професійній патентно-правовій роботі перебуває з 1980 р. Працював на посаді провідного експерта у справах винаходів і відкриттів у Дніпропетровській філії Всесоюзного центра патентних послуг при Держкомітеті СРСР з науки і техніки, обирався Головою Дніпропетровської міської ради Всесоюзного товариства винахідників і раціоналізаторів.

Особисто Володимиром Володимировичем складено біля 2950 описів винаходів і корисних моделей, понад 50 заявок на промислові зразки, близько 30 заявок на товарні знаки. Проведено майже 350 патентних досліджень, зв'язаних з введенням об'єктів в експлуатацію, запровадженням нових державних стандартів, продажем ліцензій за кордон.

У Дніпропетровській медичній академії Володимир Володимирович працює з 1996 р. як науковий співробітник ЦНДЛ. За цей час за його допомогою наукові спеціалісти академії отримали понад 800 охоронних документів на винаходи й корисні моделі, провели близько 600 патентних досліджень, склавши таку ж кількість Звітів, відповідно до вимог ДСТУ 3575-97. Під час проведення прикладних і фундаментальних НДР сприяє патентно-правовому захисту наукових продуктів у сферах патентного та авторського права, зв'язаних з удосконаленням або розробкою новітніх засобів лабораторних досліджень, діагностикою та лікуванням людини.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 51259 (13) A

(51) 6 G01N30/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

54) СПОСІБ ВІДРІЗНЕННЯ КОНЬЯКУ ВІД ПІДРОБКИ

1

(21) 2002021064

(22) 11 02 2002

(24) 15 11 2002

(46) 15 11 2002, Бюл №11, 2002 р

(72) Маматов Валерій Петрович, Вяткін Олександр Костянтинівич, Рудько Андрій Миколайович, Дроздов Олексій Леонідович, Білозуб Володимир Володимирович

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА СЕРТИФІКАЦІЇ

(57) 1 Спосіб відрізнєння коньяку від підробки, який містить підготовку проби, центрифугування в технологічно прийнятному режимі, ідентифікацію евгенолу, фурфуролу, ароматичних альдегідів і маскуючих домішок по термінах виходу, характерних для зразкової проби на заданій довжині хвилі аналізатора, та якісно-кількісний аналіз, який відрізняється тим, що в режимі капілярного електрофорезу сканують оптичну щільність поляризованих проб, перетворюють її у аналогово-цифровий сигнал, отримують електрофореграми, по першій з яких додатково ідентифікують амплітуди сигналів евгенолу, фурфуролу ароматичних альдегідів і маскуючих домішок, по двох інших - профілі катіонів і аніонів неорганічних кислот, при відповідній поляризації потенціалів джерела живлення, а якісно-кількісний аналіз виконують зіставленням отриманих електрофореграм із зразковими та по відхиленнях контрольованих профілів, щонайменше на одній з них, виявляють підробку

2 Спосіб відрізнєння по п 1, який відрізняється тим, що поляризацію проб здійснюють першими

2

буферними розчинами, а центрифугування - зі швидкістю 2000 - 6000 об/хв протягом 2 - 6 хв, між поляризованими пробами та другими буферними розчинами розміщують капілярну трубку, з можливістю підтримки тиску 30 мБар протягом 10 сек в її порожнині, та впритул до капілярної трубки встановлюють аналізатор, а сканування оптичних щільностей поляризованих проб здійснюють під час міграції останніх крізь капілярну трубку

3 Спосіб відрізнєння по пп 1, 2, який відрізняється тим, що для ідентифікації термінів виходу та амплітуд сигналів евгенолу, фурфуролу та ароматичних альдегідів і маскуючих домішок перший буферний розчин формують з борної кислоти, тетраборату натрію та води дистильованої, взятих у співвідношенні 5,5 6,5 38,0 (см³)

4 Спосіб відрізнєння по пп 1, 2, який відрізняється тим, що для ідентифікації профілю катіонів неорганічних кислот перший буферний розчин формують у вигляді суміші бензімідозолу, винної кислоти, 18-краун-6 та води дистильованої, взятих у співвідношенні 3,0 1,0 2,0 4,0 (см³)

5 Спосіб відрізнєння по пп 1, 2, який відрізняється тим, що, для ідентифікації профілю аніонів неорганічних кислот перший буферний розчин формують у вигляді суміші хромової кислоти, діетанопоміну, цетилтриметилпамонію броміду та води дистильованої у співвідношенні 2,0 4,0 2,0 2,0 (см³)

6 Спосіб відрізнєння за п 2, який відрізняється тим, що друп буферні розчини отримують змішуванням перших буферних розчинів з водою дистильованою в співвідношенні 1 10

Вінахід відноситься до досліджень або аналізу матеріалів особливими способами, переважно спиртних напоїв, і може бути використаним у виноробній промисловості та установах, що контролюють якість товарних продуктів

Рівень техніки, що досліджений заявником, інформує про те, що основна тенденція розвитку способів оцінки коньяку полягає в підвищенні об'єктивності оцінки якості та вірогідності визначення підробки, свідчить про спроможу виробників захис-

тити власну продукцію від фальсифікації [1], а також про наявність стандартизованої методики щодо визначення домішок в коньяках [2], а від того - необхідність удосконалення засобів контролю залишається вельми актуальною

Відомий спосіб оцінки якості коньяку, що містить підготовку проби, визначення загальної кількості ароматичних альдегідів та оптичної щільності, характерних для зразкової проби, та подальший якісно-кількісний аналіз, у відповідності з яким,

окрім визначення показників ароматичних альдегідів, додатково досліджують концентрацію загального екстракту лігніну й дубильних речовин, а якісно-кількісний аналіз здійснюють шляхом зіставлення межових значень показників зразкової та поточної проб по кількості ароматичних альдегідів і середньорічної швидкості накопичення, з урахуванням віку витримки коньяку [3]

Сукупність ознак відомої органолептичної методики на думку заявника є корисною лише при оцінці відповідності віку коньяків до стандартної норми на технологічних стадіях його дозрівання

До причини, що обмежує досягнення очікуемого технічного результату, належить аналіз замалої кількості критеріїв, що найбільш корелюють з якістю коньяку, а від того - погіршує об'єктивність оцінки якості та вірогідність визначення підробки

Найбільш близьким об'єктом до запропонованого винаходу, є спосіб відрізнєння коньяку від підробки, який містить підготовку проби, центрифугування в технологічно прийнятному режимі, ідентифікацію евгенолу, фурфуролу, ароматичних альдегідів і маскуючих домішок по термінам виходу, характерних для зразкової проби на заданій довжині хвилі аналізатора, та якісно-кількісний аналіз, у відповідності з яким, в поточній пробі додатково виділяють нефлавоноїдні феноли при осадженні полімерних флавоноїдів, ідентифікують та визначають концентрації виділених фракцій шляхом рідинної хроматографії, утворюють графік залежності віку коньяку від термінів виходу фракцій та величин їх спектральних відносин, а якісно-кількісний аналіз виконують із залученням віку коньяку, значень копіру поточної проби, присутності в ній евгенолу, фурфуролу, ароматичних альдегідів і маскуючих домішок, даних про масові концентрації фракцій, при умові, що як елюент рідинної хроматографії використовують суміш ацетонтрилу з ізопропанолом у співвідношенні 2,5 - 3,0 0,5 - 1,0 в ацетатному буфері тощо [4]

Перевага відомого рішення задачі, як одного із об'єктів рідинної колоночної хроматографії, над попереднім аналогом полягає в деякому підвищенні точності та об'єктивності оцінки

Технічний рівень прототипу зумовлений збільшенням номенклатури критеріїв, що корелюють з якістю коньяку, здебільшого кількістю аналізованих фракцій, урахуванням впливу маскуючих домішок, копіру поточних проб, наявності виходу найбільш характерних інгредієнтів, а також вдосконаленістю чутливості ідентифікації та збільшенням фрагментації проби при хроматографічному аналізі вмісту

Між тим, рідинна хроматографія, як засіб визначення кількісно-якісних характеристик різноманітних речовин у розчинах отримала переважливе значення [2] та чимале розповсюдження в методах визначення якості, віку коньяків та підробки інших алкогольних напоїв

Але, на думку заявника, хиба відомого об'єкту полягає в недостатній ефективності використання поширеної номенклатури критеріїв якості, а хроматографічна основа розв'язання задачі на сучасному рівні техніки сполучена з обмеженнями можливостей збільшення чутливості при ідентифікації фракцій та ступені їх фрагментації, що в сукупності

запобігає підвищенню об'єктивності оцінки та точності відрізнєння коньяку від підробки

Це пояснюється тим, що терміни виходу фракцій евгенолу, фурфуролу, ароматичних альдегідів і маскуючих домішок з величинами їх спектральних відносин трансформують до якості лише через утворення графіку віку коньяку, що корелює з останніми, а схильність хроматографічного аналізу до спотворення результатів ідентифікації сприяє послабленню реакції на фальсифікатори, що можуть входити до вмісту підробки. Поряд із цим, урахування копіру коньяку набуває важливості лише при виробництві, бо вважається прикметою зрівноваження концентрації найбільш характерних інгредієнтів і не володіє самостійним значенням, як таке що підлягає заміщенню, переважно маскуючими домішками чи харчовими барвниками з боку фальсифікації, а від так - обмежує об'єктивність оцінки, особливо в умовах рідинної хроматографії, що запишається недостатньою для забезпечення оптимальних рівнів поляризації активності елюенту та тривалості інтервалів між періодами їх утримання під час ідентифікації

На думку заявника, прототип набуває переважливості ефективності лише при оцінці якості зрілості коньяків до стандартної норми на технологічних стадіях його виробництва, як і вищевизначений аналог

В основу винаходу поставлена задача розробити такий спосіб відрізнєння коньяку від підробки, який шляхом поширення критеріїв оцінки при капілярному електрофорезі покращує як об'єктивність оцінки якості, так вірогідність визначення підробки при використанні

Означений вище технічний результат досягається тим, що у відомому способі відрізнєння коньяку від підробки, який містить підготовку проби, центрифугування в технологічно прийнятному режимі, ідентифікацію евгенолу, фурфуролу, ароматичних альдегідів і маскуючих домішок по термінам виходу, характерних для зразкової проби на заданій довжині хвилі аналізатора, та якісно-кількісний аналіз, згідно з винаходом, в режимі капілярного електрофорезу сканують оптичну щільність поляризованих проб, перетворюють її у аналогово-цифровий сигнал, отримують електрофореграми, по першій з яких додатково ідентифікують амплітуди сигналів евгенолу, фурфуролу ароматичних альдегідів і маскуючих домішок, по двом іншим - профілі катіонів і аніонів неорганічних кислот, при відповідній полярності потенціалів джерела живлення, а якісно-кількісний аналіз виконують зіставленням отриманих електрофореграм із зразковими та по відхиленню контролюємих профілів, щонайменше на одній з них, виявляють підробку, при умовах, що поляризацію проб здійснюють першими буферними розчинами, а центрифугування - зі швидкістю 2000 - 6000 об/хв на протязі 2 - 6хв, між поляризованими пробами та другими буферними розчинами розміщують капілярну трубку, з можливістю підтримки тиску 30мБар на протязі 10сек в її порожнині, та впритул до капілярної трубки встановлюють аналізатор, а сканування оптичних щільностей поляризованих проб здійснюють під час міграції останніх крізь капілярну трубку, що для ідентифікації термінів

виходу та амплітуд сигналів евгенолу), фурфуролу, ароматичних альдегідів і маскуючих домішок перший буферний розчин формують з борної кислоти, тетраборату натрію та води дистильованої, взятих у співвідношенні 5,5 6,5 38,0(см³), що для ідентифікації профілю катіонів неорганічних кислот перший буферний розчин формують у вигляді суміші бензімідозолу винної кислоти, 18-краун-6 та води дистильованої, взятих у співвідношенні 3,0 1,0 2,0 4,0(см³), що для ідентифікації профілю аніонів неорганічних кислот перший буферний розчин формують у вигляді суміші хромової кислоти, діетаноліміну, цетилтриметиламона броміду та води дистильованої, у співвідношенні 2,0 4,0 2,0 2,0(см³) що другі буферні розчини отримують змішуванням перших буферних розчинів з водою дистильованою в співвідношенні 1 10

Сканування оптичної щільності поляризованих проб в режимі капілярного електрофорезу позбавляє необхідності використання зайвих домішок у вмісті проби, що майже на 100% піднімає ступінь екстракції присутніх фракцій і чутливість їхньої ідентифікації. Перетворення результатів сканування в аналогово-цифровий сигнал засвідчує витончену, більш прозору графологічну картину поточної проби, і дозволяє виявити те тільки присутність найбільш характерних ідентифікаторів, але й штучні домішки, що непередбачені у стандартному вмісті коньяку. Отримання електрофореграм, як своєрідного відтиснення вмісту коньяку у вигляді зображення, надає змогу візуалізувати форми, послідовність, амплітуди сигналів і терміни виходів кожного з інгредієнтів вмісту, аналізувати їх за допомогою графологічних чи обчислювальних методик, без необхідності трансформовування якості через показник витримки продукту. Додаткова ідентифікація амплітуд сигналів евгенолу, фурфуролу ароматичних альдегідів, наприклад бузкового та конферилового ванілінів, обов'язкових маскуючих і штучних домішок, що знаходяться та обізнаність по термінам виходу на електрофореграми при більш високій чутливості аналізатора, відбиває стан автентичної якості чи підробки проби. Безпосереднє апелювання не тільки до цих критеріїв якості, але й до штучних домішок при візуалізації результатів ідентифікації інформує про більш ефективне використання показників, ніж за прототипом. Істотним внеском вважається поширення оціночних критеріїв, корелюючих з якістю коньяку, як по збільшенню номенклатури їх одиниць (оцінка органічного та неорганічного вмісту), так і по застосуванню додаткових прийомів оцінки цих критеріїв (загальний підхід і оцінка по катіонам і аніонам), на підставі поширеної інтерпретації відбиття їхнього стану. Окрім контролю вищезазначених термінів виходу аналізуємих фракцій та амплітуд сигналів, притаманних агентам-ідентифікаторам, оцінка вмісту по профілям станів катіонів і аніонів неорганічних кислот забезпечує альтернативний (незалежний) аналіз, а разом із цим - поліпшує об'єктивність оцінки якості коньяку та вірогідність визначення його фальсифікації, що бракує в прототипі. Зіставлення профілів часто межує з неоднозначними висновками про ідентичність сигналів евгенолу, фурфуролу, ароматичних альдегідів і маскуючих домішок, тому оцінка станів

катіонів і аніонів неорганічних кислот істотно покращує об'єктивність та упевненість у визначенні підробки

Інші ознаки об'єкта не мають самостійного правового значення і належать до уточнень без яких відтворення способу вважається неможливим

Виготовлення буферних розчинів дозволяє отримати та підготувати форетичне й електролітичне середовища для відтворення процесу, забезпечує поляризацію проби, виділення фракцій, їх міграцію та виявлення кількісного вмісту. Центрифугування проби переспідує її дегазацію для безперешкодливого потрапляння в порожнину капілярної трубки та подальшого переміщення. При швидкості центрифугування меншій за 2000об/хв дегазація аналізу не ефективна, а при швидкості понад 6000об/хв - пробірка Еппендорфа часто не витримує зусиль центробіжних навантажень. Центрифугування протягом менше 2 хвилин стає чинником замалої дегазації, а використання більш тривалого часу, наприклад понад 6хв, - нецільно технологічно та вважається межею досягнення ефекту. Змішування проб з першими буферами передбачає поляризацію фракцій коньяку для виділення на електричному рівні та подальшого розпізнання при скануванні. Розміщення капілярної трубки між поляризованими пробами та другими буферними розчинами відтворює капілярний електрофорез, сприяє переміщенню виділених фракцій для остаточної ідентифікації та розпізнання. Підтримка тиску в капілярній трубці на рівні 30мБар при експозиції 10 секунд дозволяє виділеним фракціям потрапити до порожнини капіляру. Відхилення від цього технологічного режиму недоцільно, бо при зменшенні експозиції підтримки тиску в капілярі можливі перешкоди потрапляння аналізу в порожнину крізь замалий перетин капіляру, а при збільшенні - відбувається спотворення результатів сканування, порушення швидкості руху в останній. Отже, сукупність умов відтворення капілярного електрофорезу виключає необхідність використання хімічних засобів, як необхідну основу рідинної хроматографії за прототипом, і тим підвищує ступінь екстракції виділених фракцій, у т.ч. й фальсифікаторів, забезпечує оптимальні рівні поляризації, стабілізує експозицію інтервалів між періодами їх виділення в пробі

Означені властивості капілярного електрофорезу істотно збільшують чутливість ідентифікації фракцій та ступінь їх фрагментації, що забезпечує підвищення об'єктивності оцінки якості та вірогідності визначення підробки

Для аналізу термінів виходу та амплітуд сигналів нейтральних молекул евгенолу, фурфуролу та ароматичних альдегідів і маскуючих домішок перший буферний розчин містить борну кислоту, тетраборат натрію та воду дистильовану, у співвідношенні 5,5 6,5 38,0(см³) Значущість складу буфера пов'язується з ефективністю поляризації вмісту проби, чутливістю ідентифікації вмісту, регуляцією зв'язків із зарядженими міцелами додецилсульфату натрію. Зниження кількості додецилсульфату натрію в електролітичному середовищі є критичним до активності його міцел, а завищення -

до виснаження електролітичного носія при використанні

Для ідентифікації профілів катіонів і аніонів неорганічних кислот використовують інші буферні розчини в якості перших, наприклад з бензімідозолу, винної кислоти, 18-краун-6 та води дистильованої, взятих у співвідношенні 3,0 1,0 2,0 4,0(см³) та хромової кислоти, діетаноліміну, цетильтриметиламонія броміду та води дистильованої, у співвідношенні 2,0 4,0 2,0 2,0(см³), відповідно Концентрації буферів слід вважати оптимальними, бо виключно у наданих співвідношеннях можливо максимізувати шукану поляризацію ідентифікаторів коньяку та електролітичний баланс

Розбавлення перших буферних розчинів водою дистильованою у співвідношенні 1 10 оптимізує швидкість руху поляризованих фракцій коньяку в каплярній зоні, чутливість ідентифікації та сканування оптичної щільності При збільшенні концентрації проби, виникають помилки ідентифікації з-поза погіршення умов міграції цього електрофоретичного середовища в каплярній трубці, а при зменшенні - виснажується форетичне середовище, до яких досягнення технічного результату набуває критичного стану

Сукупність додаткових ознак незалежних пунктів формули уточнює технологічні умови ідентифікації, реєстрації та визначення концентрації фракцій коньяку в пробі і має зв'язок з підвищенням ступені екстракції фракцій та чутливості при використанні, а від того - з підвищенням об'єктивності оцінки якості та вірогідності визначення підробки

Тож, сукупність відокремлюючих ознак заявленого винаходу за наявності причинно-слідчих зв'язків з технічним результатом є істотною

Відомості, що підтверджують можливості здійснення способу, що заявляється, полягають в наступному

На фіг 1,2 надані електрофореграми зразкової та поточної проб коньяку, що відбивають органічний стан його вмісту, відповідно, на фіг 3,4 - теж саме, відносно стану неорганічного вмісту по катіонам, на фіг 5-6 - теж саме, відносно стану неорганічного вмісту по аніонам

Для відрізнєння коньяку від підробки доцільно застосування промислової системи каплярного електрофорезу «Капель-103Р» (виробництва РФ), кварцового капляру Ø0,075мм і довжиною 600мм, ваг лабораторних 2 класу, мір маси, дозаторів піпеточних змінних обсягів (5 - 50мм³, 50 - 200мм³, 200 - 1000мм³), рН метру, програмного забезпечення «Мультіхром» і комп'ютера 486-ї моделі

Допоміжні пристрої: центрифуга (на 2000 - 6000об/хв), пробірки одноразові типу Еппендорфа, місткістю 1,5см³, фільтри целюлозно-ацетатні, з діаметром пір від 20мкм, насадки фільтра

Допускається використання приладів і устаткування інших моделей з аналогічними або більш кращими метрологічними характеристиками

Реактиви: дистильована вода, борна кислота, натрій тетраборнокислий, хромової кислота, цетильтриметиламонію бромід, діетанолімін, етилендіамін, винна кислота, бензімідозол, 18-краун-6

Спосіб відрізнєння коньяку від підробки виконують у наступній послідовності

Заздалегідь приготують перші та другі буферні розчини для оцінки органічного вмісту - термінів виходу та амплітуд сигналів евгенолу, фурфуролу, ароматичних альдегідів, маскуючих домішок, у т ч й фальсифікаторів, та оцінки неорганічного вмісту - аніонів і катіонів неорганічних кислот (всього шість)

Для аналізу термінів виходу та амплітуд сигналів нейтральних молекул евгенолу, фурфуролу та ароматичних альдегідів і маскуючих домішок перший буферний розчин формують шляхом змішування борної кислоти, тетрабората натрію та води дистильованої, а другий - шляхом додання до першого буферного розчину води дистильованої, при технологічно сприйнятливих співвідношеннях об'ємних частин, що задані

Для ідентифікації профілів катіонів неорганічних кислот використовують інший буферний розчин в якості першого, наприклад суміш бензімідозолу, винної кислоти, 18-краун-6 та води дистильованої, а другий буфер отримують шляхом додання до першого буферного розчину води дистильованої, при заданих співвідношеннях об'ємних частин, як найбільш технологічно сприйнятливих

Для ідентифікації профілів аніонів неорганічних кислот використовують інший буферний розчин в якості першого, наприклад суміш хромової кислоти, діетаноліміну, цетильтриметиламонія броміду та води дистильованої, а другий буфер отримують шляхом додання до першого буферного розчину води дистильованої, при оптимальніших співвідношеннях об'ємних частин, що задані

Після фільтрації поточної пробі до неї додають другий буферний розчин, то призначений для аналізу термінів виходу та амплітуд сигналів нейтральних молекул евгенолу, фурфуролу та ароматичних альдегідів і маскуючих домішок, і дегазують шляхом центрифугування у заданому технологічному режимі Між пробією, що змішана з другим буфером, та електролітичним середовищем, функцію якого виконує перший буферний розчин (призначений для аналізу термінів виходу та амплітуд сигналів нейтральних молекул евгенолу, фурфуролу та ароматичних альдегідів і маскуючих домішок), встановлюють каплярну трубку, з можливістю підтримки тиску 30МБар на протязі 10сек в її порожнині, встановлюють аналізатор оптичної щільності впритул до каплярної трубки та комутують ланцюги високовольтного живлення Нейтральні молекули поляризованих (виділених) фракцій коньяку під час електрофорезу мігрують крізь каплярний провідник, внаслідок взаємодії із зарядженими мицелами додецилсульфату натрію При наведенні електричного поля, спрямованого повздовж каналу капляра, електричні заряди мігрують у взаємно протилежних напрямках, завдяки надлишковій концентрації катіонів і молекулярного зчеплення виділених фракцій пробі з останніми

За допомогою детектора, розміщеного впритул до капляра, сканують оптичні щільності поляризованих проб

Сканування відбувається на хвилі 254nm Електрофореграма, що отримується, являє набір позитивних піків, що піднімаються над своєрідною реперною лінією, як таких, що здатні відбити якісні характеристики коньяку, стан його віку (битримки)

а також наявність фальсифікаторів вмісту. Коло зумовлених речовин що реєструються, є достатньо широким і включає органічні сполуки з ароматними заступниками, з'єднання зі сполученими подвійними зв'язками, деякі неорганічні з'єднання тощо. За допомогою детектора реєструються також і компоненти, що не мають поглинання на довжині хвилі 254нм, наприклад, неорганічні аніони або катіони лужних або лужноземельних металів. Це «непряме детектування» досягається введенням у головний (перший) електроліт невеличких концентрацій речовин, що поглинаються на потрібній довжині хвилі. При визначенні аніонів добавка, що поглинається, теж повинна бути аніоном, а при визначенні катіонів - мати властивості катіонів ароматних амінів. Тому, що йонна сила головного (першого) електроліту під час розподілу фракцій залишається постійною, зона концентрації непоглинаючих зарядів набуває спроможу до реєстрації. Обмін відбувається еквівалентно, на електрофореграмі спостерігаються зворотні (негативні) піки, площі яких пропорційні до концентрацій аніонів, що аналізуються.

Шляхом перетворення даних сканування проби в аналогово-цифровий сигнал отримують першу електрофореграму.

Електрофореграма проби коньяку, виготовленого з застосуванням органічних та неорганічних сполук, барвників і ароматизаторів характеризується піками цих речовин або термінами виходу останніх і амплітудами, що підлягають ідентифікації та кількісній оцінці в пробі. Досить порівняти поточну електрофореграму проби із зразковою (еталонною), і візуалізація профілів підтвердить автентичність або наявність підробки. Крім евгенолу, фурфуролу, ароматичних альдегідів і маскуючих домішок в коньяках різних марок можливо виявити ряд інших специфічних органічних елементів, які при електрофорезі беруть участь у формуванні «фірменого відтиску» їх профілів, легко розпізнаються та допомагають встановити автентичність, вік або якість виробу.

Аналогічно виконують альтернативні перевірки автентичності (віку та якості) коньяку за станом катіонів і аніонів неорганічних кислот, при відповідній полярності потенціалів джерела живлення, з отриманням двох інших електрофореграм.

Проведення якісно-кількісного аналізу забезпечується зіставленням відповідних зразкових і поточних електрофореграм і виявленням підробки по відхиленням профілів поточної проби від зразкової, щонайменше по одній з електрофореграм. Під час зіставлення контролюємих профілів візуалізують форми, послідовність, амплітуди сигналів і терміни виходів не тільки кожного з інгредієнтів вмісту, але й фальсифікаторів, що можуть входити до вмісту підробки. Терміни виходу фракцій дозволяють ідентифікувати наявність інгредієнтів, а їх амплітуди - «масову картину» елементів. Незалежний аналіз профілів станів катіонів і аніонів неорганічних кислот покращує об'єктивність та упевненість висновків про наявність підробки.

Тож, спосіб дозволив шляхом поширення критеріїв оцінки покращити як об'єктивність оцінки якості, так вірогідність визначення підробки при використанні

Додатковим підґрунтям технічного рівня заявленого рішення задачі є запровадження капілярного електрофорезу, що забезпечує більш високу ступінь екстракції вмісту та чутливість ідентифікації, сприяє позбавленню неоднозначних висновків щодо оцінки якості коньяку або його підробки. У наданому вигляді спосіб може бути використаним не тільки для відрізнєння коньяку від підробки, але й для визначення якості та віку останнього. Запропонованому об'єкту притаманні високий рівень рентабельності та автоматизації, швидкість визначення вмісту, відсутність необхідності використання додаткових реагентів для виділення фракцій та простота відтворення.

Приклад відрізнєння коньяку від підробки

Для відрізнєння коньяку від підробки була залучена система капілярного електрофорезу «Капель-103Р», кварцовий капіляр \varnothing 0,075мм, довжиною 600мм, ваги лабораторні 2 класу, міри маси, дозатори піпеточні змінних обсягів, рН метр, програмне забезпечення «Мультіхром» і комп'ютер 486-ї моделі.

Для аналізу термінів виходу з амплітудами сигналів евгенолу, фурфуролу ароматичних альдегідів і маскуючих домішок готували перший буферний розчин шляхом змішування борної кислоти, тетрабората натрію та води дистильованої у співвідношенні 5,5 6,5 38,0(см³). Другий буферний розчин отримували шляхом додання до першого буфера води дистильованої у співвідношенні 1 10.

Для виявлення профілю катіонів неорганічних кислот готували інший буферний розчин на основі бензімідозолу, винної кислоти, 18-краун-6 та води дистильованої, взятих у співвідношенні 3,0 1,0 2,0 4,0(см³). Другий буфер отримували шляхом додання до першого буферного розчину води дистильованої у співвідношенні 1 10.

Для ідентифікації профілю аніонів неорганічних кислот перший буферний розчин формували у вигляді суміші хромової кислоти, діетаноліміну, цетилтриметиламона броміду та води дистильованої, у співвідношенні 2,0 4,0 2,0 2,0(см³), а другий буферний розчин отримували змішуванням першого буфера з водою дистильованою в співвідношенні 1 10.

При аналізі термінів виходу та амплітуд сигналів евгенолу, фурфуролу ароматичних альдегідів, маскуючих домішок і речовин-фальсифікаторів в поточну пробу після фільтрації додавали другий буферний розчин, що містив суміш борної кислоти, тетрабората натрію та води дистильованої у співвідношенні 5,5 6,5 38,0(см³), розчинений водою дистильованою у співвідношенні 1 10. Після дегазації проби шляхом центрифугування зі швидкістю 4000об/хв протягом 4хв, між пробірками з пробою та першим буферним розчином (борна кислота, тетраборат натрію, вода дистильована, у співвідношенні 5,5 6,5 38,0(см³)) встановлювали кварцову капілярну трубку \varnothing 0,075мм і довжиною 600мм. Впритул до нього розміщували датчик оптичної щільності, а перед початком сканування протягом 10сек в порожнині трубки утворювали тиск у 30мБар і при відповідній поляризації вмикали електричне живлення ланцюгів електрофорезу. Після потрапляння проби в капіляр, під час міграції

іонів до аноду, на довжині хвилі аналізатора 254нм сканували оптичну щільність електрично розділених фракцій вмісту. Вихідний сигнал прочитували за аналогово-цифровим принципом та обробляли програмою «Мультіхром» на комп'ютері, отримували першу електрофореграму (фиг 2).

Для аналізу стану катіонів неорганічних кислот в поточну пробу після фільтрації додавали другий буферний розчин, що містив бензімідозол, винну кислоту, 18-краун-6 та воду дистильовану у співвідношенні 3,0 1,0 2,0 4,0(см³), розчинений водою дистильованою у співвідношенні 1 10. Після дегазації проби шляхом центрифугування зі швидкістю 4000об/хв протягом 4хв, між пробірками з пробєю та першим буферним розчином (бензімідозол, винна кислота, 18-краун-6 та вода дистильована, у співвідношенні 3,0 1,0 2,0 4,0(см³)) встановлювали кварцову капілярну трубку Ø0,075мм, довжиною 600мм. Впритул до нього розміщували датчик оптичної щільності, а перед початком сканування протягом 10сек в порожнині трубки утворювали тиск у 30МБар і при відповідній поляризації вмикали електричне живлення ланцюгів електрофореми. Після потрапляння проби в капіляр, під час міграції іонів в трубі, на довжині хвилі аналізатора 254нм сканували оптичну щільність електрично розділених фракцій вмісту. Вихідний сигнал прочитували за аналогово-цифровим принципом та обробляли програмою «Мультіхром» на комп'ютері, отримували другу електрофореграму (фиг 4).

Надалі, для аналізу стану аніонів неорганічних кислот в поточну пробу після фільтрації додавали другий буферний розчин, що містив суміш хромової кислоти, діетаноломіну, цетилтриметиламонія броміду та воду дистильовану, у співвідношенні 2,0 4,0 2,0 2,0(см³), розчинений водою дистильованою у співвідношенні 1 10. Після дегазації проби шляхом центрифугування зі швидкістю 4000об/хв протягом 4хв, між пробірками з пробєю та першим буферним розчином (хромової кислота, діетаноломін, цетилтриметиламонія бромід, вода дистильована, у співвідношенні 2,0 4,0 2,0 2,0(см³)) встановлювали кварцову капілярну трубку Ø0,075мм, довжиною 600мм. Впритул до нього розміщували датчик оптичної щільності, а перед початком сканування протягом 10сек в порожнині трубки утворювали тиск у 30МБар і при відповідній поляризації вмикали електричне живлення ланцюгів електрофореми. Після потрапляння проби до капіляру, під час міграції іонів в трубі, на довжині хвилі аналізатора 254нм сканували оптичну щільність електрично розділених фракцій вмісту. Вихідний сигнал прочитували за аналогово-цифровим принципом та обробляли програмою «Мультіхром» на комп'ютері, отримували третю електрофореграму (фиг 6).

Проведення якісно-кількісного аналізу забезпечувалось зіставленням відповідних зразкових і поточних електрофореграм. Для визначення фальсифікації достатнім була наявність відхилення профілів, щонайменше по одній з трьох електрофореграм. Під час зіставлення контролюємих профілів візуалізували форми, послідовність, амплітуди сигналів і терміни виходів не тільки кожного з інгредієнтів, що притаманні зразковій марці конь-

яку, але й сигнали з боку фальсифікуючих домішок, що входили до вмісту підробки. Терміни виходу фракцій дозволяли ідентифікувати інгредієнти, а їх амплітуди - масову концентрацію в пробі. Незалежний аналіз профілів станів катіонів і аніонів неорганічних кислот покращував об'єктивність та упевненість висновків про наявність підробки.

При візуалізації електрофореграм, що надані на фиг 1,2, як таких, що відбивають стан органічного вмісту зразкової та поточної проб очевидна наявність підробки. Про це свідчать різниця загальних профілів, розбіг термінів виходу та амплітуд сигналів еугенолу, фурфуролу, ароматичних альдегідів і маскуючих домішок, наявність замаскованих речовини-фальсифікаторів, використаних у замалих концентраціях. Для ствердження про наявність фальсифікації достатнє лише візуальне зіставлення проб.

Порівняння станів неорганічних кислот по катіонам (фиг 3,4) у зразковій та поточній пробах має місце, при деякій схожості профілів, розбіг термінів виходу та амплітуд сигналів, що інформує про фальсифікацію. Порівняльний аналіз не потребує подальшої математичної обробки даних для більш переконливих стверджувачів.

Порівняння станів неорганічних кислот по аніонам (фиг 5,6) у зразковій та поточній пробах інформує про деяку схожість профілів, особливо між 4 і 6 хвилинами виходу, але сумнівний вигляд мають інтервали цих сигналів, що вимагало б додаткового обчислення площин піків, у разі відсутності впевненості з приводу фальсифікації за даними електрофореграм на фиг 2,4.

Але, для затвердження фальсифікації чи підробки коньяку достатнім вважається порушення профілю щонайменше на одній з електрофореграм.

Отже, на прикладі конкретного використання об'єкта, завдяки поширенню кількості оцінних критеріїв, переважно за рахунок додаткової оцінки вмісту неорганічних кислот і поширення інтерпретації результатів ідентифікації вмісту, доведена можливість покращення об'єктивності оцінки якості коньяку та вірогідності визначення підробки. Використання способу науково-дослідними лабораторіями виноробної галузі та службами контролю за якістю продукції допоможе підвищити якість коньяків та позбавити ринок від недоброякісної продукції. Спосіб характеризується покращенням деяких технічних показників, наприклад підвищенням чутливості розпізнавання фракцій до 30нг/мл, забезпеченням екстракції вмісту - до 100%, скороченням термінів виходу на 10 - 25% та має істотні економічні переваги над прототипом.

Джерела інформації

1. Способ защиты готовой продукции от подделки, демонстрации ее подлинности и устройство для реализации способа. Заяв 98101765 России, МПК7 G09F3/02 /В Ю Казаков, В Г Шипша, В Е Рябиков, В Ю Казаков (Россия), -№ 98101765/09, Заявл 02.02.98, Опубл 10.01.00.

2. ГОСТ 30536-97 Водка и спирт этиловый. Газохроматографический метод определения содержания микропримесей.

Козлов Володимир Олексійович

6.06.1949 - 10.03.2009

Анатом, доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки та техніки України, 1949 року народження. У 1976 р. закінчив лікувальний факультет ДМІ. У 1981 р. захистив кандидатську дисертацію "Морфофункціональні взаємовідносини кровоносної та м'язової системи серця", у 1989 р. докторську - "Структурна організація передсердь в онтогенезі".

З 1989 р. – професор кафедри анатомії людини, а з 1993 – завідувач кафедри. З 2006 до 2009 р. головний науковий співробітник ЦНДЛ.

Науковий напрямок Володимира Олексійовича - вивчення закономірностей структурної організації серця у онто- та філогенезі.

Автор понад 200 наукових праць, 6 монографій, 5 винаходів, 43 раціоналізаторських пропозицій. Під його керівництвом захищено 3 докторські та 5 кандидатських дисертацій.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 52094 (13) A

(51) B A61N1/30, A61N39/08

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ПРИСТРІЙ ДЛЯ ЗДІЙСНЕННЯ КОМПЛЕКСНОЇ НАДВИСОКОЧАСТОТНОЇ РЕФЛЕКСОФОРЕТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ

1

2

(21) 2002021357

(22) 19 02 2002

(24) 16 12 2002

(46) 16 12 2002, Бюл. №12, 2002р

(72) Покатаєв Віктор Миколайович, Козлов Володимир Олексійович, Дроздов Олексій Леонідович, Завгородній Леонід Терентієвич, Шугуров Олександр Сергійович, Ткалич Віктор Григорович, Василишин Роман Йосипович, Кошарний Віталій Федорович, Довгаль Геннадій Володимирович, Мішалов Володимир Дем'янович
(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

(57) 1 Пристрій для здійснення комплексної надвисокочастотної рефлексоретичної терапії, що виконаний у вигляді порожнистої капсули з діелектричного матеріалу з конусоподібним виступом на функціональній ділянці та містить кризний канал у конусоподібному виступі, сполучений з порожниною капсули, гідрофільний елемент, розташований в цій порожнині, ущільнюючий елемент, контактуючий з гідрофільним, з'єднаний з кришкою за допомогою пружини, утворюючою нарізну пару з внутрішньою поверхнею порожнини капсули, електроди електричних потенціалів, один з яких

з'єднаний з цією кришкою, а другий має зв'язок з функціональною ділянкою конусоподібного виступу, який відрізняється тим, що додатково в діелектричному шарі капсули до гідрофільного елемента підведені провідники, кризний канал конусоподібного виступу армований цирконієм і зв'язаний електрично з другим електродом протилежного електричного потенціалу, а функціональна ділянка капсули оснащена зовнішньою обичайкою, що аксіально оточує конусоподібний виступ з можливістю утворення напівпровідникового хвильоводу, сполученою електрично разом із провідниками, що контактують з гідрофільним елементом, з комутатором, до входу якого приєднані виходи генераторів надвисокої частоти та імпульсів, амплітудний дискримінатор, блок керування з таймером, блок індикації, блок діагностики з електродами пошуку біологічно активних точок та рефлексного впливу

2 Пристрій за п 1, який відрізняється тим, що до входів блока керування підключені виходи генераторів надвисокої частоти, імпульсів та амплітудного дискримінатора

3 Пристрій за п 1, який відрізняється тим, що генератор надвисокої частоти має додатковий зв'язок з генератором імпульсів

Винахід відноситься до медицини, здебільшого до електротерапії, наприклад до пристроїв іонофорезу, а також до фізіотерапії, переважно до визначення місцезнаходження та стимулювання специфічних рефлекторних крапок на поверхні тіла, а саме голговколювання, й може бути використаний у гастро-, онко-, дерматології тощо

Відомо використання хімічних речовин в електрофоретичній терапії, як проміжних лікарських середовищ [1]

Часто використання означених засобів не завжди доцільне, бо ініціює побічні явища, внаслідок впливу на здорові органи й тканини, що оточують місце впливу

В ряді інших об'єктів вищезначена хиба компенсується при рефлекс- або голкотерапії локальним впливом на окремі біологічно активні точки

(БАТ), що мають відношення до адекватних патологічних явищ [2, 3]

До причини, що стримує досягнення очікуемого технічного результату, належить відсутність можливості введення ліків в БАТ що подразнюються

Найбільш близьким об'єктом по сукупності істотних ознак до винаходу, що заявляється, є пристрій для здійснення комплексної рефлексоретичної терапії, що виконаний у вигляді порожнистої капсули з конусоподібним виступом на функціональній ділянці, з діелектричного матеріалу, та містить кризний канал у конусоподібному виступі, сполучений з порожниною капсули, гідрофільний елемент, розташований в цій порожнині, ущільнюючий елемент, контактуючий з гідрофільним, зв'язаний з кришкою за допомогою пружини

жини, утворюючи різьбову пару з внутрішньою поверхню порожнини капсули, електроди електричних потенціалів, один з яких поєднаний з цією кришкою, а другий - має зв'язок з функціональною дільницею конусоподібного виступу [4]

В основу винаходу поставлена задача розробити такий пристрій для комплексної рефлексофоретичної терапії, який шляхом різнофакторного впливу на БАТ забезпечує підвищення ефективності лікування, запобігає утворенню побічних явищ на здорові органи й тканини, за рахунок додаткової надвисокочастотної дії, як складової комплексного впливу, при використанні

Означений технічний результат досягається тим, що відомий пристрій для здійснення комплексної рефлексофоретичної терапії, що виконаний у вигляді порожньої капсули з конусоподібним виступом на функціональній дільниці, з діелектричного матеріалу, та містить кризний канал у конусоподібному виступі, сполучений з порожниною капсули, гідрофільний елемент, розташований в цій порожнині, ущільнюючий елемент, контактуючий з гідрофільним, зв'язаний з кришкою за допомогою пружини, утворюючи різьбову пару з внутрішньою поверхню порожнини капсули, електроди електричних потенціалів, один з яких поєднаний з цією кришкою, а другий - має зв'язок з функціональною дільницею конусоподібного виступу, згідно з винаходом, додатково в діелектричному шарі капсули до гідрофільного елемента підведені провідники, кризний канал конусоподібного виступу армований цирконієм і пов'язаний електрично з другим електродом протилежного електричного потенціалу, а функціональна дільниця капсули постачена зовнішньою обичайкою, аксіально оточуючою конусоподібний виступ, з можливістю утворення напівпровідникового хвильоводу, сполученою електрично разом із провідниками, що контактують з гідрофільним елементом, з комутатором, до входу якого приєднані виходи генераторів надвисокої частоти та імпульсів, амплітудний дискримінатор, блок керування з таймером, блок індикації, блок діагностики з електродами пошуку біологічно активних крапок та рефлексивного впливу, при умові, що до входів блоку керування підключені виходи генераторів надвисокої частоти, імпульсів та амплітудного дискримінатора, а генератор надвисокої частоти має додатковий зв'язок з генератором імпульсів

Постачання функціональної дільниці капсули зовнішньою обичайкою, аксіально оточуючою конусоподібний виступ, з можливістю утворення напівпровідникового хвильоводу, сполученою електрично з комутатором, до входу якого приєднані виходи генераторів надвисокої частоти та імпульсів, амплітудний дискримінатор, блок керування з таймером, блок індикації, блок діагностики з електродами пошуку біологічно активних крапок та рефлексивного впливу, при умові, що до входів блоку керування підключені виходи генераторів надвисокої частоти, імпульсів та амплітудного дискримінатора, а генератор надвисокої частоти має додатковий зв'язок з генератором імпульсів утворює засіб понадвисокочастотного впливу та в сукупності з елементами рефлексофоретичного впливу поширює функціональні можливості пристрою,

забезпечує оптимальність регенеративно-імунних процесів на клітинному рівні, під час іонного впливу хіміопрепаратами, посилює ефективність терапії майже у 5 - 30 разів, а наявність різнофакторного впливу на БАТ забезпечує підвищення ефективності лікування, запобігає утворенню побічних явищ на здорові органи й тканини, за рахунок додаткової надвисокочастотної дії, як складової комплексного впливу

Укладання провідників електричного живлення гідрофільного елемента в діелектричному шарі капсули забезпечує контроль за повнотою витрати ліків, що складають терапевтичну дозу, забезпечує формування команд керування щодо зміни режимів впливу та переходу до інших терапевтичних етапів (повторне заповнення капсули або використання ліків із іншої капсули, генерацію сигналу понадвисокої частоти (ПВЧ) найбільш оптимальної потужності), а від того - поліпшує ефективність терапії. Електричний зв'язок гідрофільної прокладки з амплітудним дискримінатором запобігає ушкодженню тканин внаслідок електричного або теплового пробою тканини у зоні БАТ чи відхилення заданого режиму від заданої норми

Армування кризного каналу конусоподібного виступу цирконієм і його безпосереднє живлення електродом протилежного електричного потенціалу посилює іонізацію речовини, що насичує гідрофільний елемент, без ушкодження навколишніх тканин. Цирконій є найбільш корозійностійким металом, який практично не реагує на кислоти та лужні сполуки, має антисептичні властивості, позитивно впливає на лікування дерматитів, екзем тощо, сприяє поліпшенню обмінних процесів

Введення таймера, блоку керування та комутатора забезпечує подання до капсули та інших електродів напруги постійного струму, імпульсів заданої полярності, забезпечує максимальний терапевтичний ефект, у першу чергу з боку форетичного впливу, у разі впливу іонів різних ліків різної полярності через різні капсули до різних БАК одного меридіану, також сприяє акумуляції ліків в тучних клітинах та лімфатичному середовищі, у зоні БАК, із передачею через різні контури першої тканини. Такий комплексний підхід зменшує або повністю виключає на тривалий час болювий синдром, стимулює імунну систему, повністю реабілітує ушкоджені тканини, зменшує ріст та в значній мірі виключає метастазування злоякісних пухлин тощо

Портативні можливості пристрою, автоматичний режим роботи, забезпечення безпеки та самодіагностики у роботі додатково характеризують пристрій, як зручний та багатофункціональний при використанні

Тож, кожна з ознак у сукупності, що заявляється є суттєвою, бо має причинно-слідчий зв'язок з очікуваним технічним результатом

При перевірці відповіді об'єкта умови «винахідницький рівень» заявником не встановлено впливу на технічний результат, що заявляється, з боку тотожних ознак інших аналогів. З технічного рівня, встановленого заявником, також витікає, що перевіршення технічного результату не витікає з нього явним чином

Отже винахід, що заявляється, відповідає

умовам винаходу «новизна» та «винахідницький рівень»

На фігурі зображений вигляд пристрою для здійснення комплексної надвисокочастотної рефлексоретичної терапії у повздовжньому перетині з функціональною схемою (F)

Відомості, що підтверджують можливість використання винаходу, що заявляється, з досягненням вищезначеного технічного результату полягають в наступному

Пристрій для здійснення комплексної надвисокочастотної рефлексоретичної терапії містить порожнисту капсулу 1 з конусоподібним виступом 2 на функціональній дільниці, що виконана з діелектричного матеріалу. Конусоподібний виступ 2 має кризний канал 3, що сполучений з порожниною 4 капсули 1. В порожнині 4 утримується гідрофільний елемент 5, що контактує з ущільнюючим елементом 6, зв'язаним у свою чергу з кришкою 7 за допомогою пружини 8, утворюючи різьбову пару (не позначено) з внутрішньою поверхнею цієї порожнини 3 кришкою 7 контактує електрод 9 одного з електричних потенціалів, а другий 10 - має зв'язок з конусоподібним виступом 2 функціональної дільниці. Додатково в діелектричному шарі капсули 1 укладені провідники електричного живлення 11 гідрофільного елемента 5, кризний канал 3 конусоподібного виступу армований шаром 12 цирконію та пов'язаний електрично з другим електродом 10 електричного потенціалу. При цьому, функціональна дільниця капсули 1 постачена зовнішньою обичайкою 13, яка аксіально оточує конусоподібний виступ 2, з можливістю утворення напівпровідникового хвильоводу. На електричному рівні функціональна частина (що утримує конусоподібний виступ 2 й обичайку 13) поєднана з комутатором 14, до входу якого приєднані виходи генераторів надвисокої частоти 15 та імпульсів 16, амплітудний дискримінатор 17, блок керування 18 з таймером 19, блок індикації 20, блок діагностики 21 з електродами 22 пошуку біологічно активних крапок та рефлексивного впливу. До входів блоку керування 18 підключені виходи генераторів надвисокої частоти 15, імпульсів 16 та амплітудного дискримінатора 17, а генератор надвисокої частоти 15 має додатковий зв'язок з генератором імпульсів 16.

На прикладі використання, капсула 1 виконувалась з фторопласту, хоча можуть бути ефективними й такі матеріали як оргскло, ебоніт тощо. Діаметр кризного каналу 3 конусоподібного елемента 4 сягав 0,4мм, його допускові коливання доцільні в межах $\pm 0,1$ мм. Використання вати, як гідрофільного елемента 5, дозволило забезпечити здійснення фореетичного впливу у терапевтично сприйнятливому режимі. Кризний канал армується цирконієм шляхом гальваностегії, з досягненням означеної величини діаметру, але може бути отриманим і за рахунок вставки в нього тонкостінної трубки з цирконію. Усі електроди зв'язувались послідовно з комутатором 14 та блоком керування 18 або амплітудним дискримінатором 17. У свою чергу, блок керування 18 керує генератором надвисокої частоти 15 поєднаним з хвильоводом 13, генератором імпульсів 16, таймером 19, який відповідно формує циклограму роботи блоку діагно-

тики 21. Блок керування 18 через комутатор 14 також пов'язувався з електродами 22, що мали форму дисків з голчастим виступом у центрі. Товщина дисків 5 - 7мм, діаметр 10 - 20мм. Викотворені з цирконію або з срібла, міді, цинку тощо. Блок індикації 20 постачався світловими та звуковими елементами. Джерело живлення утримувало акумуляторний елемент, перетворювач напруги, та елемент контролю напруги. Регулювання режимів впливу здійснювали блоком керування 18, у залежності від фізичного стану кожного з пацієнтів.

Зазначений технічний результат при використанні пристрою, що заявляється, забезпечується впливом іонофорезу, що здійснюється від джерела живлення, ($U = 4,5 - 9,0$ В), у режимі споживання струму близько $I = 100$ мкА, за 4 - 6 циклів на добу, тривалістю понад 15 - 30хв кожний. Голкотерапія досягається коливаннями капсули 1 при відповідному позиціонуванні на БАТ, з наступним додатком тиску в комплексі з фореетично-й радіотерапевтичними процедурами. Електрофорез забезпечується 5 - 10% розчинами препаратів при $T 34 - 35^{\circ}\text{C}$ й обсягом витрат останніх біля $1,5 - 2,0$ см³ на сеанс. Сполучена радіотерапія може проводитися на довжині хвилі портативного генератора 5,6 - 7,1мм з потужністю вихідного сигналу біля $0,1$ мВт/см², тривалістю 25 - 30хв, по 2 доби на кожній частоті та по 15хв у наступні дні, з чергуванням беззупинного та імпульсного режимів на цих частотах. Крім того, пристрій має можливість здійснювати вплив на БАТ, через лікувальні електроди 22. Конусоподібним виступом 2 капсули 1 та лікувальними електродами 22 можливо здійснювати вплив на БАК постійним струмом 10 - 500мкА при напрузі до 9в, змінним струмом різної частоти та імпульсним током від 5 - 100Гц вище вказаної сили. Вибирати та керувати режимом роботи допомагає блок керування 18.

Тож, пристрій дає можливість індивідуалізувати терапію, виконувати її беззупинно, в положенні рівня пацієнта, завдяки його портативності, на високоефективному рівні без утворення побічних явищ на здорові органи й тканини. Різномасштабний характер терапії досягається можливістю одночасного впливу на БАТ електро-акупунктурою, радіохвилями та електрофорезом з використанням як фореетичних середовищ речовин анальгезуючої, імуномодельючої, метаболістичної дії тощо. При цьому тривалість та кількість процедур, що призначені лікарем, можуть виконуватись в домашніх умовах, з одержанням оптимального ефекту.

До складу капсули 1 введені два допоміжних електроди 11, які контролюють транспортування хімічних речовин через амплітудний дискримінатор 17, інформують про відсутність ліків в порожнині капсули 1, контролюють коливання струму внаслідок електричного або теплогового пробою тканини у зоні БАТ і через амплітудний дискримінатор 17 забезпечують відключення живлення електрода 9 капсули 1. До складу пристрою також додатково введені комутатор 14, що підключає різні засоби впливу, які відрізняються видом струму, полярністю, формою та частотою імпульсів, тривалістю впливу й т.і. Усі сигнали потрапляють на комутатор із джерела живлення генератора імпульсів 16. Управління комутатором здійснюють

блоком керування 16, циклограму для якого здійснює таймер 19. З комутатора 14 також передаються інформаційні сигнали від провідників електричного живлення 11 гідрофільного елемента 5 на амплітудний дискримінатор 17, що аналізує присутність або відсутність ліків у каналі 3, по зменшенню струму через електроди нижче встановленого рівня, а також наближення до пробою по стрибку струму на провідниках 11. Комутатор 14 також видає інформаційні параметри з електродів 22 до блоку діагностики 21, у якому плинні значення порівнюються із середньостатистичними та початковими. Результати аналізу поступають до блоку керування 14, який приймає рішення по продовженню або припиненню терапії.

Лікувальна мета досягається впливом на БАТ постійним, змінним, імпульсним струмом різних частот і амплітуд, електромагнітними хвилями надвисоких коливань (5,6 - 7,1 мм), мікроелектрофорезом однієї або різних полярностей. Стратегія лікування передбачає послідовний вплив на різні БАТ одного або різних меридіанів, з яким пов'язується патологічне відхилення того чи іншого органу.

Ефект впливу кожного з лікувальних процесів посилюється при послідовному впливі. Час процедури - не обмежений. Пристрій - індивідуальний, портативний, з автоматичним джерелом живлення, діагностичними властивостями оцінки результатів лікування.

Перед лікуванням лікар обстежує хворого, проводить пошук БАТ, потрібних для лікування, призначає лікарські сполуки, дає рекомендації по їх введенню до капсули, встановлює режим роботи усіх блоків пристрою, режим роботи усіх електродів, діагностичних параметрів та вводить їх у пам'ять блоку керування 14. В капсулу 1 для забезпечення лікування вводять ліки, яку у подальшому встановлюють та закріплюють разом з електродами 21 липкою стрічкою до шкіри. Вмикають пристрій, який у подальшому працює в автоматичному режимі та забезпечує визначення блоком 21 присутності ліків, початкового рівня опору БАТ, при впливі на них постійним струмом 10 мкА. Надалі - контролює режим для генераторів та інших функціональних вузлів і надає блоку керування 14 команду на початок роботи. Після введення потрібної кількості лікарських сполук, впливу сигналами надвисокої частоти, імпульсами потрібної полярності, частоти й амплітуди тощо, пристрій автоматично знеструмлюється.

Приклад. Хворий В., 65 років. Анамнез хворий страждає від болюв нирок на протязі останніх 2 діб, почав скаржитися на різке збільшення болю в зоні пупка та в підреберній області, часте сечовиділення. При огляді встановлено наявність ниркової копки, нирко-кам'яної хвороби, периферійні лімфатичні вузли - не збільшені, тони серця чисті, ритмічні, пульс 80 уд./хвилину, дихання у легенях везикулярне, язик вологий, живіт - симетричний, м'який, задіяний у диханні. При пальпаціях виникає біль в правій та лівій підреберній облас-

тах. Гемоглобін - 110, лейкоцити - 7600, моноцити - 5, ШОЕ - 13. Загальний білок - 6,04%. Сечовина - 30 мг/л. Білірубін - 0,8%. Діагноз: нирко-кам'яна хвороба, ниркові копки, сечокистий діатез.

Хворому призначена комплексна надвисоко-частотна рефлексотерапія. Надвисоко-частотний вплив - на довжині хвилі 5,6 мм, потужністю вихідного сигналу 0,1 мВт/см, тривалістю 30 хв. на протязі наступних 2 діб лікування, з чергуванням безупинного та імпульсного режимів на зазначених частотах. Форетичний режим забезпечувався з позитивного електроду джерела живлення ($U = 60 \text{ В}$, $I = 10 \text{ мкА}$) по 4 цикли на добу, тривалістю 40 хв. При цьому, використовували 5% розчин CaCl_2 в обсязі 2 см³, баралгін із однієї з капсули та ношпу з другої. Акупунктурний вплив здійснювали на рівні зони Захар'їна-Геда та крапок, що мали відношення до нирок. Комплексний вплив підтримували одночасним впливом на зони Захар'їна-Геда. ЕМ випромінювачем ПВЧ діапазону з потужністю сигналу 0,1 мВт/см². Лікарські препарати діяли на медіальні канали, нирки й знімали больові синдроми. Після 76 процедур встановлене поліпшення стану хворого.

Під впливом джерела живлення електрони потрапляли крізь електрод, що був розміщений в порожнині капсули, до гідрофільної прокладки, яка контактувала з ним електрично. Інгредиенты останньої в іонній формі крізь осьовий канал спрямовано потрапляли до БАТ. Електричний зв'язок з електродами відбувався через ланцюжок, що поєднував його з джерелом живлення крізь комутатор. Терапія здійснювалась за рахунок комплексного впливу на біологічні клітини та медіальні канали, що відбувалися одночасно.

Отже, заявлений об'єкт шляхом комплексного різнофакторного впливу на БАТ забезпечує підвищення ефективності лікування, запобігає побічним явищам у здорових органах і тканинах при використанні. Йому властиві високі експлуатаційні зручності, по власним можливостям пристрій не поступається стаціонарним приладам, має ознаки холтеровського, спроможний передавати до біологічних клітин електричні сигнали терапевтично сприйнятливої осцилографічної форми й потужності.

Тож, надані відомості інформують про те, що заявлений винахід може бути використаним, в медицині, наприклад в комплексній радіо-, електро- та фізіотерапії, для нього підтверджена можливість здійснення за допомогою засобів, що надані в заявці чи відомі до дати підтвердження можливості досягнення очікуваного технічного результату.

Джерела інформації

1. А. с. 1533700 СССР, МПК А61Н 1/18 - 1990
2. А. с. 1657185 СССР, МПК А61Н 39/08 - 1990
3. Пат. 1816450 Росії, МПК А61Н 39/08 - 1993
4. Шт. України по заявці №98105586, МПК А61Н 1/30 - 1998



УКРАЇНА

(19) UA (11) 60223 (13) A

(51) 7 A61B5/0484

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ПОРУШЕННЯ ПАМ'ЯТІ, ПЕРЕВАЖНО ГІПЕРМНЕЗІЇ, У ТВАРИН

1

2

(21) 2003043447

(22) 20 05 2003

(24) 15 09 2003

(46) 15 09 2003, Бюл. № 9, 2003 р.

(72) Дроздов Олексій Леонідович, Кушнір Анатолій
Миколайович, Козлов Володимир Олексійович,
Білозуб Володимир Володимирович(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА
АКАДЕМІЯ

(57) Спосіб моделювання порушення пам'яті, переважно гіпермнезії, у тварини, що включає відтворення симптомів порушення пам'яті шляхом фармакологічного впливу, який відрізняється тим, що додатково перед фармакологічним впливом виготовляють суспензію сиднокарбу як похідного сидноніміну, на 1% крохмалевому слизі, у співвідношенні 1:40, яку у подальшому вводять внутрішньошлунково у кількості 25 мг/кг двічі на день, протягом 7 діб, з інтервалом 6-8 годин

Винахід відноситься до медицини, а саме до визначення, виміру або реєстрації з діагностичною ціллю, здебільшого з викликом відповідної реакції, і може бути використаний в експериментальній медицині для пошуку ефективних механізмів лікування розладів пам'яті у людини.

Відомий спосіб моделювання порушень пам'яті у тварини шляхом електрошокового впливу на ЦНС [1]. Але фізичний вплив на ЦНС за його умов є замало фізіологічним, складним, травматичним і часто призводить до загибелі експериментальних тварин.

Більш простими та ощадливими є ті способи моделювання порушень пам'яті у тварини, що містять відтворення симптомів її порушення шляхом фармакологічного впливу, з можливістю блокування етапів формування, фіксації, зберігання та відтворення пам'ятного сліду [3-5].

Так, використання М-холіноблокаторів забезпечує фармакологічну блокаду нейромедіаторного, переважно холінергічного забезпечення процесів пам'яті [3,4]. Залучення до моделювання антибіотиків з групи актиноміцину гальмує синтез білків, а застосування діетилдітіокарбамату сприяє блокуванню адренергічного механізму [5].

Проте, відтворення симптомів порушення пам'яті фармакологічним шляхом часто обмежує ефективність і точність моделювання.

Причиною, що стримує досягнення очікуваного технічного результату є використання засобів блокуючого напрямку, які мають істотний вплив не тільки на окремі ланки системи пам'яті, але також і на функції серцево-судинної, імунної та інших фі-

зіологічних систем організму. Зокрема, вони адекватно моделюють лише такі порушення пам'яті, які в умовах клініки звичайно виникають у людини внаслідок гострого отруєння відповідними хімічними речовинами, а внаслідок того опосередковано впливають на вірогідність даних при використанні таких моделей, особливо при аналізі стану гіпермнезії.

Інші способи моделювання порушень пам'яті (амнезії) у тварин при дослідженні технічного рівня не встановлені.

В основу винаходу поставлено задачу розробити такий спосіб моделювання гіпермнезії у тварини, який шляхом реалізації натуральних симптомів тривалого нервового напруження людини забезпечує підвищення ефективності й точності при використанні.

Вищезазначений технічний результат при здійсненні об'єкта досягається тим, що у відомому способі моделювання порушень пам'яті, переважно гіпермнезії, у тварини, що містить відтворення симптомів розладів пам'яті шляхом фармакологічного впливу, згідно з винаходом, додатково перед фармакологічним впливом виготовляють суспензію сиднокарба, як похідного сидноніміну, на 1% крохмалевому слизі, у співвідношенні 1:40, яку у подальшому вводять внутрішньошлунково у кількості 25 мг/кг двічі на день, на протязі 7 діб з інтервалом у 6-8 годин.

Натуральні симптоми тривалого нервового напруження створюються завдяки фармакологічній психостимуляції ЦНС, переважно сиднокарбом, як похідним сидноніміну. Для його властивостей ха-

рактарні за мала токсичність, відсутність периферичної симпатоміметичної дії, можливість поступового розвитку стимулюючого впливу на ЦНС. В умовах клініки сиднокарб добре переноситься хворими, але при передозуванні порушує пам'ять, підвищує подразливість, викликає стурбованість й іншу психопатологічну симптоматику.

За цих умов, стимулюючі властивості сиднокарбу, з одного боку, надають можливість відтворити патогенетичний механізм порушення мнестичних процесів людини, яка знаходиться під впливом тривалого нервового напруження, а з іншого, залишаються інтактними до функцій серцево-судинної, імунної та інших фізіологічних систем організму. Причому, використання сиднокарбу забезпечує формування стану гіпермнезії, як посиленої фази моделювання розладу пам'яті, а від того, сприяє підвищенню ефективності й точності моделювання, і дозволяє використати спосіб у наданому вигляді для пошуку механізмів лікування розладів пам'яті у людей, які знаходяться під впливом багатьох супутніх захворювань, наприклад нервово-психічних, серцево-судинних, імунних, ендокринних, ЧМТ тощо і призводять до різноманітних обмежень працездатності, соціальної дезадаптації та інвалідизації у подальшому.

Можливість отримання моделі гіпермнезії зумовлена, здебільшого введенням суміші сиднокарбу з 1% крохмальним слизом, завдяки подовженню терміну психостимуляції ЦНС і періоду її розчинення та висмокування в шлунок. Дозовий режим тривалого впливу а саме по 25 мг/кг, двічі на день, на протязі 7 діб з інтервалом у 6-8 годин, як і концентрація крохмального слизу, є найбільш оптимальними для отримання максимального технічного результату. Зменшення запропонованих параметрів, разом із скороченням терміну впливу знижує інтенсивність фармакологічної психостимуляції ЦНС, а завищення - стає чинниками занадто високої подразливості тварини та її психопатологічної симптоматики, що стримує ефективність і точність моделювання.

Додатково, сиднокарб добре зберігається, у тому числі і в суспензіях, і належить до групи тих фармакологічних препаратів, що достатньо виробляються промисловістю.

Відомості, що підтверджують можливість здійснення заявленого об'єкта та підвищення ефективності й точності полягають в наступному.

Сутність винаходу ілюструється графічними матеріалами, тобто Фіг 1, на якій надана динаміка формування умовної реакції активного уникнення та Фіг 2, де зображена динаміка формування умовної реакції активного уникнення при підгострому введенні сиднокарбу.

Для здійснення способу залучають дорослих білих щурів, переважно самців лінії Вістар, сиднокарб, крохмаль.

Перед виконанням фармакологічного впливу, на 1% крохмальному слизу виготовляють сиднокарбову суспензію шляхом змішування компонентів у співвідношенні 1:40. При введенні сиднокарбової суспензії в шлунок тварини використовують зонд і дотримуються оптимального дозового режиму, а саме по 25 мг/кг 2 рази на день, протягом 7 діб з інтервалом у 6-8 годин.

Здійснення способу у наданому вигляді дозволяє пролонгувати вплив на ЦНС у 3-4 рази по відношенню до прототипу.

Для перевірки можливості використання способу моделювання порушення пам'яті, переважно гіпермнезії, у тварини з отриманням очікуваного технічного результату був поставлений експеримент на двох групах білих щурів, під час якого для кількісної оцінки стану пам'яті у них виробляли умовну реакцію активного уникнення (УРАУ) за умов відомого винаходу [6]. При цьому одній групі експериментальних тварин вводили внутрішньолунково суспензію сиднокарбу, а другу використовували для контролю. Під час формування УРАУ вимірювали тривалість латентного періоду та умовної реакції активного позбавлення останнього (УРАП), обчислювали помилки реакції активного позбавлення (у відсотках). При цьому Фіг 1 свідчила про поступове зменшення кількості помилок та відсотка підкріплень, у відповідь на дію умовного подразника у інтактних тварин, тоді як формування енграм введення сиднокарбу призвело на 3-й добу до розвитку вільних відповідей майже у 80% випадків, що дозволило оцінити практичне завершення виробки пам'ятного сліду. В групі дослідних тварин виникли складні зміни відтворення слідів умовно рефлексорної пам'яті. Вони полягали у виникненні ознак гіпермнезії, які надалі змінювались різким погіршенням стану пам'яті. Починаючи з третього дня впливу сиднокарбовою суспензією, частка правильних відповідей стрімко збільшилась, зменшився відсоток помилок і кількість додаткових підкріплень (Фіг 2). Проте, через 2 тижні спостереження, коли формування умовно рефлексорної пам'яті в звичайних умовах завершувалось, у експериментальних щурів наступало значне погіршення відповідних показників. Наведені результати свідчать про те, що курсове внутрішньолункове введення суспензії сиднокарбу на протязі 7 діб в сумарній добовій дозі 25 мг/кг приводить до такого стану УРАУ та активного позбавлення, який за сукупністю кількісних ознак й основними нейрохімічними та патогенетичними механізмами становить сформовану модель еквіваленту порушень умовно рефлексорної пам'яті, переважно гіпермнесичного стану.

Таким чином, під впливом сиднокарбової суспензії виникали глибокі зміни пам'яті, внаслідок тривалого перебування тварин в умовах змодельованого психоемоційного напруження. Відмова від використання засобів блокуючого напрямку, пов'язаних з психостимуляцією ЦНС при фармакологічному впливі дозволила змодельувати не тільки розлади пам'яті у вигляді гіпермнезії, без побічних ускладнень функціонування серцево-судинної, імунної, ендокринної та інших фізіологічних систем організму. У зв'язку із цим можливо стверджувати про те, що запропоноване рішення задачі досягає підвищення ефективності й точності моделювання, майже в 3 рази. Як вже зазначено вище, здійснення винаходу дозволяє у 3-4 рази пролонгувати вплив на ЦНС, ґрунтується на використанні доступної фармакологічної основи, забезпечує атравматичність, спрощує виконання оперативних прийомів і виключає втрати експери-

ментальних тварин при використанні

Заявлений винахід в умовах експериментальної медицини спроможний до моделювання порушень пам'яті, переважно гіпермнезії, у тварини, яке являє собою еквівалент порушень пам'яті у людини. Технічний результат, що досягається при використанні винаходу, поєднаний з підвищенням ефективності й точності моделювання та досягається шляхом реалізації натуральних симптомів тривалого нервового напруження людини, переважно, за рахунок використання сиднокарбової суспензії.

Джерела інформації

1 Бородкин Ю С, Крауз В А. Фармакология краткосрочной памяти. - М. Медицина, 1978

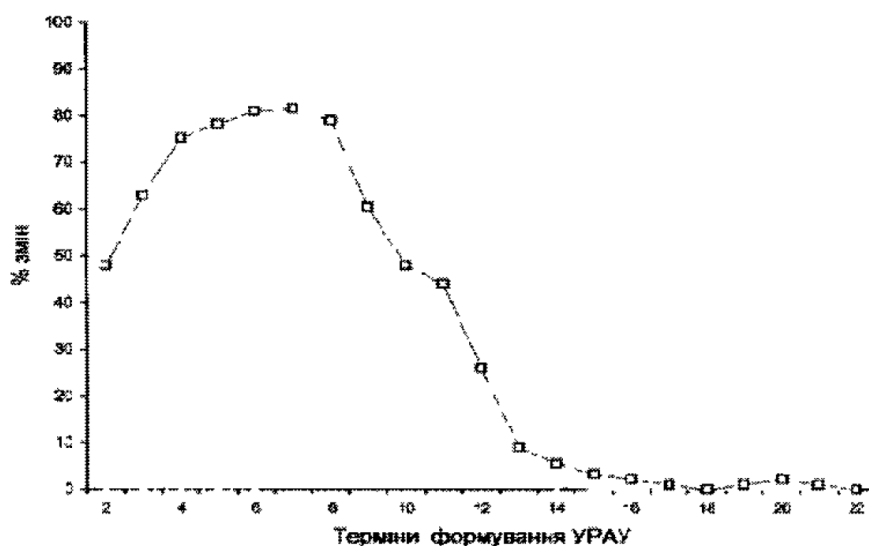
2 Ильиченко Р Ю. Фармакология поведения и памяти. -Новосибирск. Наука. -1972

3 Haycock J W, Buskirk R van, McGaugh J L. Facilitation of retention performance in mice by post-training dithiokarbamate. -Pharm Biochem and Behav, 1977. -Vol 5. -P 525-528

4 Gartside J B. Long-term increases in cortical neuronal activity and protein synthesis. -J. Physiol, 1974. -Vol 246. -P 15-16

5 Машковский М Д. Лекарственные средства. В 2 т. Т 1. - М. 2000. - с 124-125

6 Спосіб структурно-функціональної оцінки формування умовної реакції активного уникнення тварини. Пат №44400 України, МПК А61В5/02 /Дроздов О Л, Дзяк Л А, Дука Т І, Чорна В І (Україна) / Дніпропетровська державна медична академія (Україна). -№20000031752, Заявл. 28.03.00, Опубл. 15.02.02



Фиг.1



УКРАЇНА

(19) UA (11) 60224 (13) A

(51) 7 A61B5/0484

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ФОРМУВАННЯ ЕКВІВАЛЕНТА ПСИХОТИЧНОГО СТАНУ ТВАРИН

1

2

(21) 2003043449

(22) 16 04 2003

(24) 15 09 2003

(46) 15 09 2003, Бюл. № 9, 2003 р

(72) Дроздов Олексій Леонідович, Кушнір Анатолій
Миколайович, Макарчук Олександр Степанович(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА
АКАДЕМІЯ(57) Спосіб формування еквівалента психотичного
стану у тварин, що містить ініціацію розладів нер-

вової діяльності шляхом введення психотропного
препарату з заданим інтервалом часу, який відрі-
зняється тим, що як психотропний препарат вико-
ристовують сиднокарб - похідне сиднониміну, який
перед формуванням еквівалента психотичного
стану розчиняють у 1% крохмальному сплизу у
співвідношенні 1:40 відповідно, а ініціацію розладів
нервової діяльності здійснюють шляхом введення
2-50 мг/кг цієї суспензії до шлунка, протягом 14 діб
з інтервалом у 6-8 годин

Винахід відноситься до медицини, а саме до
визначення, виміру або реєстрації для діагностич-
них цілей, здебільшого з викликом відповідної реа-
кції, і може бути використаний в експерименталь-
ній медицині, теоретичній психології та у пошуках
антипсихотичних лікарських засобів

Відомий спосіб формування еквіваленту пси-
хотичного стану у тварин, що містить ініціацію
розладів нервової діяльності шляхом введення
психотропного препарату з заданим інтервалом
часу, а саме, апоморфину гідрохлориду, як похід-
ного морфіну [1]

Еквівалент «апоморфінової стереотипії», що
досягається при здійсненні згаданого способу,
характеризується близькістю нейрохімічних меха-
нізмів, включаючи й специфічну активацію ауторе-
цепторів дофамінергічних нейронів та їх постсина-
птичних дофамінових рецепторів низки структур
головного мозку, з механізмами розладів психічної
діяльності людини під час деяких психозів [2]

Хоча наданому об'єкту властива простота ви-
конання, використання апоморфіна гідрохлориду,
обмежує термін впливу на центральну нервову
систему [3], внаслідок швидкого розчинення та
руйнування в шлунку. Перш за все, це зумовлене,
його фармакологічними та фізико-хімічними влас-
тивостями, апоморфіна гідрохлорид являє собою
нестійку, особливо у розчинах, сполуку, що вису-
ває особливі вимоги до умов його зберігання та
використання

Апоморфін гідрохлориду у наш час практично
не виготовляють, що створює додаткові незручно-
сті в здійсненні способу

В основу винаходу поставлено задачу, розро-
бити такий спосіб формування еквіваленту психо-
тичного стану у тварин, який, внаслідок впливу на
норадренергічні структури мозку та використання
засобу з достатньо високою фармакологічною ак-
тивністю, забезпечує підвищення терміну впливу
на центральну нервову систему при використанні

Вищезазначений технічний результат при
здійсненні винаходу досягається тим, що, у відо-
мому способі формування еквіваленту психотич-
ного стану у тварин, що містить ініціацію розладів
нервової діяльності шляхом введення психотроп-
ного препарату з заданим інтервалом часу, який
відрізняється тим, що як психотропний препарат
використовують сиднокарб - похідне сиднониміну,
який перед формуванням еквіваленту психотично-
го стану розчиняють у 1% крохмалевому сплизі, у
співвідношенні 1:40, відповідно, а ініціацію розла-
дів нервової діяльності здійснюють шляхом вве-
дення 2-50 мг/кг цієї суспензії до шлунка, на протя-
зі 14 діб з інтервалом у 6-8 годин

Сиднокарб належить до основних клінічно
вживаних психотропних речовин і раніш для фор-
мування еквіваленту психотичного стану тварин не
застосовувався. За власною хімічною будовою -
подібний фенаміну, як психомоторному стимуля-
тору з групи фенілалкліамінів. Від останнього сид-
нокарб відрізняється меншою токсичністю, актив-
ністю стимулюючого впливу на центральну
нервову систему та зниженою периферичною
симпатоміметичною дією, що сприяє підвищенню
терміну впливу на центральну нервову систему.
До того ж, сиднокарб здатний зменшувати побічні

ефекти, які спричинені використанням психотропних засобів пригнічуючого типу дії, зокрема бензодіазепінами [4]

За нейрохімічним впливом на центральну нервову систему сиднокарб відрізняється як від апоморфіну, так і від фенаміну. Експериментальні дані свідчать про активність його впливу на норадренергічні структури мозку, у той час як фенамін, а особливо апоморфін, відзначаються потужним дофамінергічним впливом, що істотно сприяє посиленню технічного результату

Отже, сиднокарб у тому вигляді, що наданий у формулі винаходу, забезпечує ініціацію психотичного еквіваленту, підтримує або підсилює психопатологічні порушення діяльності центральної нервової системи, з досягненням заявленого технічного результату, що полягає в підвищенні терміну впливу на центральну нервову систему, наприклад у 3-4 рази

Введення сиднокарбу, у вигляді суспензії на 1% крохмальному слизу, пролонгує психотропну дію, завдяки подовженню часу його розчинення і всмоктування в шлунку. Дозовий режим введення суспензії, а саме по 2-50 мг/кг на протязі 14 діб з інтервалом у 6-8 годин, як і концентрація сиднокарбу у крохмальному слизу вважаються оптимальними для отримання максимального ефекту. Зменшення наданих параметрів, разом із скороченням терміну впливу, знижує інтенсивність впливу на структури мозку, а завищення - стає чинником за надто високої подразливості тварини та її психопатологічної симптоматики [6]

Крім того сиднокарб добре зберігається, у тому числі і в розчинах, належить до достатньо виробляємих промисловістю фармакологічних препаратів

Від так, сукупність ознак винаходу є суттєвою, бо має причинно-слідчий зв'язок з очікуваним технічним результатом. Крім того, наведені твердження інформують про те, що епоси формування еквіваленту психотичного стану у тварин відповідає критерію винаходу «новизна», бо явним чином не випливає з рівня техніки, який був встановлений заявником, а відсутність в ньому еквівалентних засобів впливу на досягнення технічного результату з боку окремих ознак, що визнані суттєвими, дозволяє дійти до висновку про відповідність заявленого рішення задачі умови «винахідницький рівень»

Відомості, що підтверджують можливість здійснення заявленого об'єкта з досягненням вищезначеного технічного результату полягають в наступному

Для здійснення способу залучають дорослих білих щурів, переважно самців лінії Вістар. Перед ініціацією психотичного еквіваленту на 1 % крохмальному слизу виготовляють сиднокарбову суспензію шляхом змішування компонентів у співвідношенні 1:40. Як вже підкреслено, зміна кількості сиднокарбу у суспензії - недоцільна. Психотичний еквівалент ініціюють шляхом внутрішньо шлункового введення отриманої суспензії крізь зонд. Для одноразового впливу її вводять по 2-50 мг/кг протягом 14 діб, з інтервалом у 6-8 годин. Здійснення

способу у наданому вигляді дозволяє пропонувати вплив на центральну нервову систему у 3-4 рази по відношенню до прототипу

Приклад. Для перевірки вищезазначеного технічного результату було поставлено експеримент

У групі дорослих білих щурів (самців) лінії Вістар психотичний еквівалент ініціювали шляхом введення сиднокарбової суспензії до шлунка, по 25 мг/кг на протязі 14 діб, з інтервалом у 7 годин. До отримання еквіваленту психотичного стану, суспензію виготовляли заздалегідь шляхом змішування сиднокарбу з 1% крохмальним слизом, у співвідношенні їх масових частин 1:40, відповідно. Стан центральної нервової системи у вихідному періоді та на 3-й, 7-й та 14-й добі курсового введення сиднокарбу досліджували за основними показниками поведінкової активності, в т.ч. горизонтальної та вертикальної рухової активності, тривалості грумінгу, кількості болюсів, дефекації, обстежених норок, вимірювали рівень агресивності тварин, спостерігаючи зміни порогу електрошкірного подразнення, яке викликало ознаки агресивної поведінки досліджуємої пари тварин. Вплив підгострого введення сиднокарбу на показники поведінкової активності білих щурів у порівнянні з вихідним фоном ($p < 0,05$) надані у таблиці №1

Отримані результати свідчать про те, що курсове внутрішньо шлункове введення сиднокарбової суспензії на протязі 14 діб у сумарній добовій дозі 25 мг/кг призводить до розвитку комплексу істотних порушень діяльності центральної нервової системи досліджуємих тварин зі зміною поведінкової активності та підвищенням ступеню агресивності, що за сукупністю поведінкових ознак, основними нейрохімічними та патогенетичними механізмами являють зформовану модель психотичного стану в умовах експерименту. При цьому, порівняння винаходу з прототипом дозволило встановити підвищення терміну впливу сиднокарбової суспензії на центральну нервову систему майже у 3-4 рази

Тож, заявлений об'єкт в умовах експериментальної медицини, теоретичної психології та у пошуках антипсихотичних фармакопрепаратів спроможний до формування моделі психотичного стану, яка за сукупністю поведінкових ознак та спільністю основних патогенетичних механізмів еквівалентна тяжким порушенням психічної діяльності людини. Технічний результат, що досягається при використанні винаходу, зв'язаний з пролонгацією впливу на норадренергічні структури мозку центральної нервової системи, переважно за рахунок використання сиднокарбу у вигляді суспензії, що забезпечує більш тривалий фармакологічний ефект. Спосіб сприяє подальшому використанню тварин, що набули стійкого еквіваленту психотичного стану в експериментальних дослідженнях під час оцінки нових психотропних засобів, зокрема нейролептиків, транквілізаторів, антидепресантів, що дозволяє вважати його ощадливим

Отже, розроблене рішення задачі відповідає умові «промислова придатність», що дозволяє кваліфікувати його винаходом України

Таблиця 1

№ п/п	Серія дослідів (число щурів)	Статистичні показники	Горизонтальна рухова активність		Вертикальна рухова активність		Тривалість грумінгу (сек)		Кількість болюсів дефекації		Кількість Обстежених норок		Поріг електрошкірного подразнення
			A) ₁	B) ₂	A) ₁	B) ₂	A) ₁	B) ₂	A) ₁	B) ₂	A) ₁	B) ₂	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	Вихідний фон	M	14,96	1,8	1,43	64,2	12,00	19,6	2,05	42,9	2,86	21,4	39,35
		± m	1,35		0,41		1,81		0,29		0,35		1,30
2	3 доба	M	29,56*	0	1,00	58,3	7,98	47,9	1,96	37,5	2,06	41,7	33,33*
		± m	3,07		0,24		1,70		0,31		0,39		1,60
3	7 доба	M	32,58*	0	0,50	70,8	9,25	37,5	2,04	45,8	4,50	16,6	31,89*
		± m	3,84		0,22		2,58		0,45		0,81		2,15
4	14 доба	M	57,96	0	1,36	59,1	1,00*	90,9*	2,77	19,2	4,27	27,3	30,44*
		± m	5,21		0,56		0,72		0,44		1,04		1,02

Джерела інформації

1 Морозов Г В , Панченко Л Ф , Анохина И П и др Влияние апоморфина на опиатные рецепторы головного мозга крыс // Бюл эксл биол и мед -1980 -№ 9 - С 566-568

2 Аадамсоо А М , Васар Э Э Действие апоморфина у больных шизофренией, в кн Механизм действия психотропных веществ -Тарту,

1982 - С 65-71

3 Машковский М Д Лекарственные средства в 2 т Т 1 -М 2000 -С 124-125

4 Валуева Л П , Тожанова Н М Коррекция сиднокарбом побочного действия транквилизаторов бензодиазепинового ряда // Журн неврол и психиатр - 1982 - № 8 -С 1212-1217



УКРАЇНА

(19) UA (11) 61769 (13) A

(51) 7 G01N30/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКОСТІ КАЛІЮ ТА НАТРІЮ В КРОВІ

1

2

(21) 2003043448

(22) 27 06 2003

(24) 17 11 2003

(46) 17 11 2003, Бюл. №11, 2003р

(72) Дроздов Олексій Леонідович, Дзяк Георгій
Викторович, Каплан Павло Олександрович

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА

АКАДЕМІЯ

(57) Застосування способу вимірювання масової
концентрації катіонів цезію, калію, літію, магнію,
кальцію, стронцію, барію в пробах питних, природних
і стічних вод, з використанням системи
капілярного електрофорезу, як способу визначення
кількості калію та натрію в крові

Винахід відноситься до досліджень або аналізу матеріалів, здебільшого шляхом розділення їх на складові частини, та може бути використаним в дослідженнях біохімічних, лабораторно-діагностичних і контрольно-аналітичних лабораторій медичних закладів охорони здоров'я

Відомі способи розділення розчинів на складові частини хроматографічним шляхом за допомогою регенеруючих буферів [1] їх особливістю є примусове використання додаткових домішок, що сприяють розділенню розчинених стюлок на складові частини

Але методи рідинної хроматографії дещо викривляють кінцеві результати, особливо при визначенні концентрацій важко ідентифікуємих фракцій, що зумовлене, переважно низькими рівнями екстракції та поляризації аналізатів у водних носіях, замалою експозицією між періодами їх утримання та погіршенням чутливості до них з боку засобів детектування, внаслідок присутності доданих домішок

З рівня техніки, що встановлений заявником, найбільш ефективним є капілярний електрофорез [2], але специфічність переважної кількості хімічних елементів і їхніх розчинників часто стримує межі використання способів його відтворення. Поряд із цим, аналоги щодо визначення кількості калію та натрію в крові на цьому рівні не виявлені

В основу винаходу поставлена задача розробити такий спосіб визначення кількості калію та натрію в крові, який шляхом капілярного електрофорезу забезпечує отримання високовірогідного кінцевого результату та розширює межі його переважного використання

Визначений технічний результат досягається використанням способу вимірювання масо-

вої концентрації катіонів цезію, калію, літію, магнію, кальцію, стронцію, барію в пробах питних, природних і стічних вод, з використанням системи капілярного електрофорезу, вперше як способу визначення кількості калію та натрію в крові, що відповідає критеріям «новизна» та «винахідницький рівень»

На фіг 1 зображена електрофореграма вигляду досліджуваної проби крові людини, з наявними піками визначеного вмісту калію та натрію, що доводить можливість відтворення базового об'єкта за новим призначенням, а саме, виділення та визначення кількості калію та натрію в крові, як біологічному середовищі

Спосіб вимірювання масової концентрації катіонів цезію, калію, літію, магнію, кальцію, стронцію, барію в пробах питних, природних і стічних вод системи капілярного електрофорезу при використанні як способу визначення кількості калію та натрію в крові характеризується виготовленням першої буферної суміші на основі розчинів бензімідазолу, винної кислоти та розчину 18-краун-6, взятих у співвідношенні обсягових частин 3 : 1 : 2, при їх концентраціях 20, 25 та 10 ммоль/л, відповідно, другої (робочої) буферної суміші, на основі першої буферної суміші та води дистильованої, взятих у співвідношенні обсягових частин 1 : 9, осадженням проби крові хлорною кислотою у 2 рази, її дегазацією та змішуванням з першою буферною сумішшю у співвідношенні 1 : 8 для проведення капілярного електрофорезу [3]

Спосіб визначення кількості калію та натрію в крові капілярно-електролітичним шляхом забезпечує визначення масової концентрації катіонів завдяки міграції та розділенню останніх під впливом дії електричного поля, внаслідок різної електро-

форетичної рухомості, а не залученням до розділення суміші на фракції додаткових зайвих домішок чи хімічних сполук. Ідентифікацію та кількісне визначення аналізованих катіонів проводять непрямим методом, реєструючи ультрафіолетове поглинання на довжині хвилі 254 нм, як робочій довжині хвилі системи «Капель», що забезпечує її технологічно сприйнятливую чутливість при аутоінтифікації проби. Реєстрація оптичної щільності останньої під час міграції активованих молекул крізь капіляр забезпечує визначення концентрації фракцій на підставі формування електрофореграм відповідним комп'ютерним забезпеченням і змогу провести аналого-цифрову обробку результатів з аналітично-обчислювальними операціями.

Тож, за рахунок виключення необхідності застосування зайвих хімічних домішок при відтворенні капілярного електрофорезу оптимізується ступінь екстракції інгредієнтів калію та натрію у йонній формі, підвищується рівень поляризації проби, зростає тривалість експозиції між періодами їх утримання в крові, чутливість та більше ніж на 30% - вірогідність визначення їх концентрації в крові, як біологічному середовищі. Істотні переваги у зниженні вищезазначеного викривлення результатів вимірів при відтворенні об'єкта забезпечуються за рахунок використання технологічних умов відомої капілярно-електрофоретичної методики [3]. І в використанні за новим призначенням, а саме, як способу визначення кількості калію та натрію в крові, інформує про розширення базових функціональних можливостей, про забезпечення його переважливості сфери застосування.

Спосіб визначення концентрації калію та натрію в крові здійснюють за умов стандартизованої методики (РФ), щодо вимірювання масової концентрації катіонів цезію, калію, літію, магнію, кальцію, стронцію, барію в пробах питних, природних і стічних вод, з використання системи капілярного електрофорезу «Капель» [3].

Приклад. Використали установку «Капель-103РТ» НПФ «Люмекс» (РФ), воду дистильовану (ГОСТ 6709-72), бензімідазол (ТУ 6-09-06-1974-88), розчин 18-краун-6 (фірми «Флука», Швейцарія), винну кислоту (ГОСТ 3776-78), хлорну кислоту (ГОСТ 3118-77). Виготовляли буферні суміші.

До вмісту першого буферного розчину залучали бензімідазол, винну кислоту, розчин 18-краун-6, у співвідношенні обсягових частин 3 : 1 : 2, відповідно, при їх концентраціях 20, 25 і 10 ммоль/л. До другої - перший буфер та воду дистильовану, у співвідношенні обсягових частин 1 : 9.

Параметри визначення концентрації калію та натрію в крові: напруження - 10 кВ, тривалість аналізу - 15 хв, час введення проби - 5 сек.

Експериментальну пробу крові перед проведенням капілярного електрофорезу дегазовували центрифугою, осаджували у співвідношенні 1 : 1 хлорною кислотою, потім змішували з першою

буферною сумішшю у співвідношенні 1 : 8.

Перший буфер давав можливість детектувати піки катіонів калію та натрію системою капілярного електрофорезу «Капель-103РТ», оптимізовував електрофоретичну активність останніх, а другий - дозволяв їм мігрувати до аноду, крізь капілярну трубку. Під час капілярного електрофорезу нейтральні молекули калію та натрію, мігрували до аноду крізь капіляр, завдяки взаємодії із зарядженими молекулами форетичного середовища. За допомогою детектора ідентифікували та реєстрували оптичну щільність шуканих елементів, а шляхом перетворення отриманих даних в аналоговий сигнал визначали їхній вміст у пробі. Детектування оптичної щільності виділених фракцій здійснювали на довжині хвилі аналізатора 254 нм.

Для сприйняття замалих концентрацій калію та натрію на протязі експерименту контролювали масштаб електрофореграм (фіг. 1), побудовану на підставі обробки сигналів датчика програмним забезпеченням «Мультіхром». Надалі, за допомогою цієї ж програми обчислювали площі піків, що формувалися адекватно до концентрації калію та натрію в аналізаті, та перетворювали їх у показники кількісного вмісту. Час виходу та значення площин піків, у залежності від концентрацій калію та натрію в крові, свідчать про технологічно сприйнятливую чутливість засобу детектування обладнання «Капель-103Р» при здійсненні способу (фіг. 1). Для ідентифікації визначаємих хімічних елементів були залучені розчини KCl і NaCl, з концентраціями калію та натрію - 10 ммоль/л, відповідно, а для кількісного аналізу використали допоміжні калібровочні розчини, відомості про які надані нижче у таблицях 1, 2. Наприкінці експерименту за даними площ піків електрофореграм визначали концентрації вимірюємих хімічних елементів. З аналізу фіг. 1 витікає, що обидва піки відповідають калію та натрію, а третій - робочому буферу.

Тож, приклад використання доводить можливість застосування способу вимірювання масової концентрації катіонів цезію, калію, літію, магнію, кальцію, стронцію, барію в пробах питних, природних і стічних вод, з використанням системи капілярного електрофорезу як способу визначення кількості калію та натрію в крові в дослідженнях біохімічних, лабораторно-діагностичних і контрольно-аналітичних лабораторій медичних закладів охорони здоров'я. Вагома властивість об'єкта полягає в посиленні вірогідності кінцевого результату майже на 30% у порівнянні з рідинною хроматографією, а в капілярному електрофорезі розширює межі використання базового об'єкта. Тим самим знижується викривлення вимірювальних результатів, підвищуються ступінь екстракції фракцій, рівень поляризації, час експозиції між періодами утримання виділених часток, тощо.

Тож, запропоноване рішення задачі відповідає умови винаходу «промислова придатність».

Таблиця 1

Концентрації натрію в пробі крові	Площі піків електрофореграм		
	S ₁ мву сек	S ₂ мву сек	S ₃ мву сек
5 ммоль/л	45,0	41,0	44,6
10 ммоль/л	83,5	85,7	86,0

Продовження таблиці 1

Концентрації натрію в пробі крові	Площі піків електрофореграм		
	$S_{1, \text{мау сек}}$	$S_{2, \text{мау сек}}$	$S_{3, \text{мау сек}}$
25ммоль/л	223,0	210,0	235,0
30ммоль/л	296,0	294,0	289,0
40ммоль/л	429,0	441,0	429,0
50ммоль/л	515,0	512,0	514,0

Таблиця 2

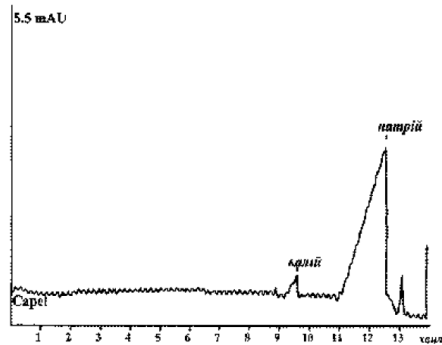
Концентрації калію в пробі крові	Площі піків електрофореграм		
	$S_{1, \text{мау сек}}$	$S_{2, \text{мау сек}}$	$S_{3, \text{мау сек}}$
1ммоль/л	4,00	3,65	3,76
2ммоль/л	7,40	7,49	8,03
5ммоль/л	23,00	21,50	22,00
10ммоль/л	42,30	42,60	42,70
25ммоль/л	199,00	201,00	187,00

Джерела інформації

1 Спосіб определения состава лекарственной формы Заяв 97106926 РФ, МПК G01N33/52 / Т. С. Малолеткина(РФ) - №97106926/14, Заявл 25 04 97, Опубл 20 04 99

2 Спосіб визначення вмісту рибоксину у водному розчині Пат №45280 України, МПК G01N 30/00 / О. Л. Дроздов, Г. В. Дзяк, О. К. Вяткін, В. П. Маматов, В. Г. Варченко, А. М. Рудько(Україна) - №2001107281, Заявл 25 10 01, Опубл 15 03 02

3 Количественный химический анализ вод Методика выполнения измерений массовой концентрации катионов цезия, калия, лития, магния, кальция, стронция, бария в пробах питьевых, природных и сточных вод с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель» ПНД Ф16.1.2.4.167 - 2000 // М. Министерство охраны окружающей среды и природных ресурсов РФ - 2000 - 34с



(11) UA 2612 U

(51) МПК А23С 9/127 (2006.01)

СПОСІБ ВИРОБНИЦТВА КИСЛОМОЛОЧНОГО ПРОДУКТУ АЦИДОФІТ-Л

(24) 15.06.2004

(21) 2004031599 (22) 04.03.2004

(46) 15.06.2004, бюл. № 6

(71) ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ РЕГІОНАЛЬНИЙ
НАУКОВО-ТЕХНІЧНИЙ ЦЕНТР
СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА
СЕРТИФІКАЦІЇ" (UA)

(72) Вінніков Альберт Іванович (UA);
Маматов Валерій Петрович (UA); Дзяк
Георгій Вікторович (UA); Дроздов Олексій
Леонідович (UA); Вяткін Олександр
Костянтинович (UA); Большакова Валентина
Леонтіївна (UA)

(73) ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ РЕГІОНАЛЬНИЙ
НАУКОВО-ТЕХНІЧНИЙ ЦЕНТР
СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА
СЕРТИФІКАЦІЇ" (UA)

(98) Патентний відділ, ДДМА, Морфокорпус,
вул. Севастопольська. 19, м.
Дніпропетровськ, 49005, (UA)

(57) 1. Спосіб виробництва кисломолочного
продукту, що включає гомогенізацію
молочної сировини під тиском $15,0 \pm 2,5$ МПа і
при температурі 45°C , пастеризацію при
температурі 87°C , охолодження до
температури заквашування, внесення

біологічно активної закваски на основі
ацидофільних бактерій штаму *Lactobacillus*
acidophilus, перемішування, сквашування
при температурі 37°C протягом 4,0-5,0 годин
до досягнення кислотності згустку $70-80^\circ\text{T}$,
введення смакових наповнювачів,
охолодження та розфасовку готового
продукту в споживчу тару, який
відрізняється тим, що додатково після
гомогенізації в молочну сировину вводять
порошок плодів китайського лимонника, як
біологічно активну добавку, і перемішують,
при цьому мінімальний температурний
градієнт пастеризації знижують до 85°C або
доводять його до $90-92^\circ\text{C}$ з експозицією 2-3
хв. і фільтрують перед пастеризацією, при
наступному співвідношенні інгредієнтів,
мас. %:

<i>Lactobacillus acidophilus</i>	2,0-5,0
порошок плодів китайського лимонника	2,0-5,0

молоко пастеризоване решта.

2. Спосіб за п.1, який відрізняється
тим, що бактерії штаму *Lactobacillus*
acidophilus вводять у вигляді суміші його
слизуватих і не слизуватих рас, узятих у
співвідношенні 20:80.

Корисна модель відноситься до їжі
або харчових продуктів, переважно, до
спеціальних технологічних процесів
молочної промисловості та обробки молока,
з використанням мікроорганізмів
Lactobacteriaceae чи інших і може бути
використаною в медицині, дієтології, як
біологічно активний компонент харчового
раціону, та харчовій промисловості у
виробництві продуктів тонізуючої
спрямованості.

В останні часи розробляється чимало
кисломолочних продуктів, що містять
біологічно активні наповнювачі, які
стимулюють функціональні системи
організму.

Наприклад, відомий кисломолочний
продукт «Джерельце», що містить молочну
основу, ацидофільну закваску, біологічно
активну добавку «Олександрина». Технологія
виробництва продукту
передбачає підігрів молочної суміші до
температури $40-45^\circ\text{C}$, гомогенізацію під
тиском $15 \pm 2,5$ МПа, пастеризацію при
температурі $92 \pm 2^\circ\text{C}$, з витримкою 2-8 хвилин
чи при температурі $87 \pm 2^\circ\text{C}$ з витримкою 10-
15 хвилин. Після цього суміш
проохолоджують до температури
заквашування $42 \pm 2^\circ\text{C}$. Закваску, що
приготовлена на стерилізованому молоці,
додають в обсязі 10%. Суміш перемішують
протягом 15 ± 2 хвилин і сквашують протягом

4-6 годин. По закінченню сквашування
згусток проохолоджують протягом 30-60
хвилин і додають біологічно активну
добавку «Олександрина», згусток
перемішують протягом 15-40 хвилин. По
досягненню однорідної консистенції
мішалку виключають на 30-40 хвилин, а
перемішаний і частково охолоджений до
температури $23 \pm 2^\circ\text{C}$, згусток подають на
розлив і охолоджують до температури $6 \pm 2^\circ$
[1].

Однак, визначена технологія має ряд
недоліків. Біологічно активна добавка
«Олександрина» вноситься на кінцевому
етапі технологічного процесу, тобто після
гомогенізації, пастеризації, сквашування
молочної основи закваскою. Але разом із
внесенням біологічно активної добавки в
практично готовий продукт можливе
влучення сторонньої мікрофлори. Крім того,
власна структура біологічно активної
добавки, технологія та режим її внесення в
згусток не гарантують повного розчинення,
а від так, можливе отримання неповної
екстракції та появи нерозчинних сполук
біологічно активної добавки у готовому
продукті.

Найбільш близьким до заявленого
об'єкта є спосіб виробництва
кисломолочного продукту, що включає
гомогенізацію молочної сировини під
тиском $15,0 \pm 2,5$ МПа і температурі 45°C ,

пастеризацію при температурі 87° С, охолодження до температури заквашування, внесення біологічно активної закваски на основі ацидофільних бактерій штаму *Lactobacillus acidophilus*, перемішування, сквашування при температурі 37°С протягом 4,0-5,0 годин до досягнення кислотності згустку 70-80°Т, введення смакових наповнювачів, охолодження і розфасовку готового продукту в споживчу тару, при цьому, кількість ацидофільних бактерій штаму *Lactobacillus acidophilus* у суміші сягає 1,5-2,5мас.%, а експозиція пастеризації - 17 хвилин чи здійснюється при температурі 93°С протягом 4 хвилин [2].

Покращення технічного результату у відповідності з прототипом забезпечується використанням ацидофільних бактерій штаму *Lactobacillus acidophilus*, як біологічно активної закваски, упорядкуванням технологічних ланцюжків, умов виготовлення продукту та можливістю внесення смакових наповнювачів. Використання ацидофільних бактерій додало продукту антибіотичні, бактерицидні властивості, забезпечило при його вживанні виробку в організмі натуральних антибіотиків, що пригнічують активність збудників розповсюджених захворювань, збільшення рівня фолієвої кислоти, біотину, збагачення вітамінами. Разом з тим, ацидофільна паличка *Lactobacillus acidophilus* добре стимулює імунну систему, регулює обмінні функції, нормалізує діяльність мікрофлори. Поліпшення послідовності і режимів технологічних прийомів виключають контамінацію суміші патогенною мікрофлорою, яка зростає при температурі 38-40°С і сприяє отриманню продукту з більш однорідною структурою.

Проте, харчова, біологічна, лікувально-профілактична та тонізуючі цінності готового продукту залишаються замалими, з-поміж відсутності в ньому відповідних харчових добавок, а застосування штамів *Lactobacillus acidophilus* обмежено відсутністю відповідних рекомендацій.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити такий спосіб виробництва кисломолочного продукту, який шляхом використання біологічно активної харчової добавки та оптимізації режиму кисломолочного сквашування забезпечує покращення харчових, біологічних, лікувально-профілактичних та тонізуючих властивостей при використанні.

Вищезазначений технічний результат при здійсненні корисної моделі досягається тим, що у відомому способі виробництва кисломолочного продукту, що включає гомогенізацію молочної сировини під тиском 15,0±2,5МПа і температурі 45°С, пастеризацію при температурі 87°С, охолодження до температури заквашування, внесення біологічно активної закваски на основі ацидофільних бактерій штаму

Lactobacillus acidophilus, перемішування, сквашування при температурі 37° С протягом 4,0-5,0 годин до досягнення кислотності згустку 70-80°Т, введення смакових наповнювачів, охолодження та розфасовку готового продукту в споживчу тару, який відрізняється тим, що додатково після гомогенізації в молочну сировину вводять порошок плодів китайського лимоннику, як біологічно активну добавку, і перемішують, при цьому мінімальний температурний градієнт пастеризації знижують до 85°С чи доводять його до 90-92°С з експозицією 2-3хв. і фільтрують перед пастеризацією, при наступному співвідношенні інгредієнтів, мас. %:

бактерії штаму *Lactobacillus acidophilus*
2,0-5,0
порошок плодів китайського лимоннику
2,0-5,0

молоко пастеризоване решта,
за умови, що бактерії штаму *Lactobacillus acidophilus* вводять у вигляді суміші його слизуватих і не слизуватих рас, узятих у співвідношенні 20:80.

Сукупність ознак заявленого технічного рішення дозволяє кваліфікувати його натуральним синбіотиком, що компенсує функції антибіотичних і хімічних препаратів, що вживаються для регулювання обмінних процесів.

Підвищення харчової і біологічної цінності продукту забезпечується тим, що у плодах китайського лимоннику виявлена наявність лимонної (10,9-11,3%), яблучної (7,6-8,4%) та винної (0,8%) органічних кислот, аскорбінової кислоти (біля 500 мг-%), танідів, флавоноїдів, кахетинів, антоціанів, як фенольних сполук (20%), ефірних олій 1,6-1,9%, схизадрину (0,12%), як одного з 10 його лігнанів. Плоди китайського лимоннику також утримують жирні олії (33,8%), що збагачені гліцеридами лінолевою, лінолевою, олеїновою кислот, цукрами, дубильними речовинами, вітаміном Е.

Збільшення лікувально-профілактичних властивостей кисломолочного продукту і додання йому тонізуючих властивостей обумовлено фармакологічними властивостями китайського лимоннику, що містять лігнани з широким спектром фармакологічної активності щодо стимуляції центральної нервової системи, активації протизапальних, антиоксидантних, адаптогенних, протимікробних, протипухлинних, протигрибкових і тонізуючих механізмів.

Застосовування в заквасці слизуватих і не слизуватих штамів *Lactobacillus acidophilus*, окрім поліпшення органолептичних показників та усунення контамінації продукту патогенною мікрофлорою, має зв'язок з реалізацією властивостей порошку плодів китайського лимоннику, збереженням харчових, біологічних, лікувально-профілактичних і тонізуючих властивостей виробленого

кисломолочного продукту. Це зумовлене утримуванням у штамах *Lactobacillus acidophilus* ацидофільної палички, що виробляє в організмі природні антибіотики з властивостями до пригнічення збудників шлунково-кишкових захворювань, туберкульозу, інфекцій верхніх дихальних шляхів тощо за рахунок активної виробки біологічно активних речовин, включаючи фолієву кислоту, біотин, збагачує вітамінами та стимулює імунну систему, регулює обмінні функції, що нормалізують рівень мікрофлори в організмі.

Використання суміші слизуватих і не слизуватих рас *Lactobacillus acidophilus* найбільш доцільне у співвідношенні 20:80, оскільки зв'язане з оптимізацією біологічної маси лактобактерій та наробітком продуктів метаболізму ацидофільних бактерій. Ведення *Lactobacillus acidophilus* у кількості меншій, ніж 2,0мас.% є недоцільним, оскільки викликає прояви контамінації суміші патогенною мікрофлорою, а від того, впливає на корисні властивості виробленого продукту. Введення суміші рас штаму *Lactobacillus acidophilus* у кількості більшій, ніж 5,0мас.%, також недоцільне, бо при культивуванні використаних агентів викликає дисбаланс продуктів метаболізму ацидофільних бактерій та погіршує заявлену цінність кисломолочного продукту. Окрім того, співвідношення слизуватих і не слизуватих рас *Lactobacillus acidophilus* у кількості 20:80 при виробництві продукту забезпечує оптимальну в'язкість консистенції, як похідну органолептичних показників кінцевого продукту.

Використання порошку плодів китайського лимоннику та слизуватих і не слизуватих штамів *Lactobacillus acidophilus* в суміші найбільш доцільне після перемішування та зниження мінімального температурного градієнту пастеризації до 85°C (або доведення до 90-92°C при набагато меншій експозиції у 2-3хв.). Це покращує режим кисломолочного сквашування, знижує контамінацію суміші патогенною мікрофлорою, збільшує кількість живих кліток бактерій ацидофільних паличок та оптимізує витяг корисних речовин і елементів з порошку плодів китайського лимоннику, а кінцева фільтрація покращує органолептичні показники отриманого кисломолочного продукту, як похідні його харчової цінності.

Біологічна цінність продукту забезпечується збільшенням кількості бактерій ацидофільних паличок, що поширює застосування продукту для лікувально-профілактичного харчування.

На підставі наданих доводів можливо зробити висновок, що сукупність відокремлювальних ознак способу покращує харчові, біологічні, лікувально-профілактичні та тонізуючі властивості при його використанні. В тім, кожна з вищезазначених ознак в окремоті є

необхідною, бо вилучення будь-якої з них із запропонованої сукупності стримує досягнення очікуваного технічного результату, а їх сукупність є суттєвою, бо має з ним причинно-слідчий зв'язок.

Відомості, які підтверджують можливість здійснення способу з досягненням заявленого технічного результату полягають в наступному.

При відтворенні способу виробництва кисломолочного продукту здійснюють гомогенізацію молочної сировини під тиском 15,0±2,5МПа і температурі 45°C і вносять порошок плодів китайського лимоннику, як біологічно активну добавку. у загальній кількості 5,0-10,0мас.%. Після перемішування суміш фільтрують і піддають пастеризації, при температурі 85-87°C з витримкою 5-10 хвилин (чи 90-92°C при експозиції 2-3 хвилин). Після охолодження до температури 37°C вносять бактерії штаму *Lactobacillus acidophilus*, як біологічно активну закваску, у вигляді суміші його слизуватих і не слизуватих рас, при відповідному співвідношенні 20:80, у загальній кількості до 2,0-5,0мас.%. Після перемішування компоненти суміші сквашують при температурі 37° С протягом 4,0-5,0 годин до досягнення кислотності згустку 70-80°Т і додають смакові наповнювачі. На завершення продукт охолоджують та фасують у споживчу тару.

Приклад. У молочну сировину, гомогенізовану під тиском 17МПа і температурі 45°C, вносили порошок плодів китайського лимоннику, у кількості 6мас.%. Суміш перемішували, як смаковий наповнювач додавали цукор, у кількості 3,2мас.%, і пастеризували при температурі 90°C з витримкою 2 хвилини та фільтрували. В охолоджену до температури 37°C масу додавали суміш слизуватих і не слизуватих рас штаму *Lactobacillus acidophilus*, як закваску, при їх відповідному співвідношенні 20:80, у загальній кількості до 4,3мас.%.Сквашували при температурі 37°C протягом 5 годин. Сквашування закінчували по досягненню кислотності 80°Т і утворенню щільного згустку. Отриману суміш гомогенізували шляхом перемішування, проохолоджували до температури 7°C та фасували у споживчу тару.

Кисломолочний продукт, отриманий за умов пропонованого способу володів тонізуючими, адаптогенними, антиоксидантними, імун о моделюючими властивостями та підвищеною біологічною активністю. Сполучення *Lactobacillus acidophilus* з порошком плодів китайського лимоннику у харчовому раціоні більш ефективно реалізував антибіотичні, бактерицидні, адаптогенні, антиоксидантні, імуномодельючі, тонізуючі властивості, чим виявило корисність продукту, насамперед при фізичній чи розумовій перевтомі, вегето-судинній дистонії, неврозах, подагрі, анемії, цукровому діабеті,

туберкульозі. Крім того, регулярне вживання продукту регулювало обмінні процеси шлунково-кишкового тракту, зменшувало атеросклеротичні зміни серцево-судинної системі, попереджало розвиток захворювань, що можуть виникнути внаслідок гноблення антибіотиками внутрішньої мікрофлори організму.

Отже, заявлене технічне рішення можливо пропонувати до виробництва натуральних продуктів-синбіотиків, що приходять на зміну антибіотичним і хімічним препаратам у регулюванні мікробіоценозу, функціональних процесів в організмі. Використання способу в молочній промисловості допоможе зменшити дефіцит продукції, що володіє харчовою, біологічною, лікувально-профілактичною та тонізуючою цінностями, для лікувально-профілактичного харчування, за рахунок використання активності харчової добавки і

оптимізації режиму кисломолочного сквашування в процесі її виробництва.

Джерела інформації:

1.Композиция для получения кисломолочного продукта «Родничок»: Пат. 2125372 России, МПК А23С 9/13 /Фесюн В.Г, Чепрасова Т.Б, Горлов И.Ф, Чернавина И А (Россия); Волгоградский НИТИ мясомолочного скотоводства и переработки продукции животноводства (Россия); АО Открытого типа Молочный завод «Волгоградский» (Россия). -№96112886; заявл.01.07.96; опубл.27.01.99.

2.Способ производства кисломолочного продукта: Пат.2004968 России, МПК А23С 9/12 /Мадоян Р.А, Арахелян Р.А (СССР); Общество с ограниченной ответственностью «ОМИК» (СССР). -№5051861; заявл. 10.07.92; опубл.30. 12.93.

(11) UA 2613 U

(51) МПК А23С 9/127 (2006.01)

(54) СПОСІБ ВИРОБНИЦТВА КИСЛОМОЛОЧНОГО ПРОДУКТУ АЦИДОФІТ-Ц

(24) 15.06.2004

(21) 2004031600 (22) 04.03.2004

(46) 15.06.2004, бюл. № 6

(71) ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ РЕГІОНАЛЬНИЙ
НАУКОВО-ТЕХНІЧНИЙ ЦЕНТР
СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА
СЕРТИФІКАЦІЇ" (UA)

(72) Маматов Валерій Петрович (UA); Дзяк
Георгій Вікторович (UA); Дроздов Олексій
Леонідович (UA); Вяткін Олександр
Костянтинович (UA); Вінніков Альберт
Іванович (UA); Большакова Валентина
Леонтіївна (UA)

(73) ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ РЕГІОНАЛЬНИЙ
НАУКОВО-ТЕХНІЧНИЙ ЦЕНТР
СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА
СЕРТИФІКАЦІЇ" (UA)

(98) Патентний відділ, ДДМА, Морфокорпус\$
вул. Севастопольська. 19, м. Дніпропетровськ,
49005; (UA)

Спосіб виробництва кисломолочного продукту, що включає нормалізацію коров'ячого молока, пастеризацію, внесення біологічно активних речовин, гомогенізацію, перемішування, охолодження, введення як симбіотичної закваски штаму *Lactobacillus acidophilus* у заданій кількості, сквашування при Т 38-40°C до досягнення кислотності 70 - 80°Т протягом заданого часу, охолодження та розфасовку готової суміші, який відрізняється тим, що як біологічно активну добавку використовують згущений 70 % екстракт цикорію, а штам *Lactobacillus acidophilus* вводять у вигляді суміші його слизуватих і не слизуватих рас, узятих у співвідношенні 20:80, при наступному співвідношенні інгредієнтів, мас. %:

раси штаму *Lactobacillus acidophilus*

2,0-5,0

згущений 70 % екстракт цикорію

0,5-1,0

молоко коров'яче пастеризоване решта.

Корисна модель відноситься до їжі або харчових продуктів, переважно, до спеціальних технологічних процесів молочної промисловості та обробки молока, з використанням мікроорганізмів *Lactobacteriaceae* чи інших і може бути використаною в медицині, дієтології, наприклад для профілактики галактоземії, лактозної недостатності, захворювань верхніх дихальних шляхів, ШКТ, серцево-судинної системи тощо, для харчування хворих на цукровий діабет, туберкульоз тощо.

Відомий спосіб виробництва кисломолочного продукту, що включає нормалізацію коров'ячого молока, його термообробку, охолодження до температури заквашування, внесення закваски та біологічно активної добавки, сквашування, перемішування агентів, охолодження та розфасовку готової суміші, відповідно до якого, як закваску використовують суміш ацидофільної палички та молочнокислого стрептокока. При цьому застосовують, переважно молочнокислий стрептокок грузлих штамів, як біологічно активну добавку - адаптовану біомасу біфідобактерій, а температуру охолодження готової суміші доводять до 4-8°C протягом 30-60хв. Для адаптації біомаси біфідобактерій протягом 10-14 годин використовують окремий реактор [1].

Проте, продукту, що виробляється за умов запропонованого способу, притаманна складна технологічність. Це зумовлено необхідністю попереднього культивування біфідобактерій, змішуванням з ними заквасок ацидофільної палички і

молочнокислого стрептокока, сквашуванням їх до кислотності 70°Т. Загальна тривалість багата стадійного технологічного циклу сягає близько 21 години, що складно сполучається з сучасними технологічними умовами виробництва молочних продуктів та впливає на собівартість останніх. Лікувально-профілактичні властивості відомого кисломолочного продукту стримані відсутністю рекомендацій з конкретного використання штамів біфідобактерій, ацидофільних паличок і молочнокислих стрептококів, а відсутність даних про його біологічну активність не дозволяють встановити межі його переважного використання.

Найбільш близьким по кількості істотних ознак до корисної моделі, що заявляється, є спосіб виробництва кисломолочного продукту, що включає нормалізацію коров'ячого молока, пастеризацію, внесення біологічно активних речовин, гомогенізацію, перемішування, охолодження, введення як симбіотичної закваски штаму *Lactobacillus acidophilus*, у заданій кількості, сквашування при Т° 38-40 С, до досягнення кислотності 70-80°Т на протязі заданого часу, охолодження та розфасовку готової суміші. При цьому, в технологічному процесі передбачене використання кукурудзяного крохмалю у кількості 0,1-0,7% та селеніту натрію при концентрації (1,25-1,55)-106мас %, як біологічно активних речовин і *Streptococcus thermophilus* у кількості 0,1-0,2%, як додаткової закваски разом з *Lactobacillus acidophilus* 317/ 402. Біологічна активність

кисломолочного продукту додатково посилюється введенням до нього кефірних грибків і кам'яних мінералів, як похідних елементів знаків Зодіаку. Компоненти, що приймають участь у заквасці, додають при $T^{\circ} 38-40^{\circ}\text{C}$ з експозицією 4-5 годин, а надалі прохолоджують до $T^{\circ} 25-28^{\circ}\text{C}$. Разом із цим, вводять кефірні грибки у кількості 1,5-2,0% до обсягу суміші, а сквашування агентів здійснюють до отримання, щонайменше (2-8)-107КOE/мол клітин молочнокислих бактерій [2].

Аналіз прототипу дозволив визначити, що використання в ньому оптимізованої кількості штаму *Lactobacillus acidophilus* і вихідної сировини для його заквашування покращує біологічні властивості кінцевого продукту. При цьому, обраний склад живильного середовища та режим культивування інгредієнтів забезпечує поживлення та збільшення біологічної маси лактобактерій з інтенсивним наростом біологічно активних продуктів метаболізму ацидофільних бактерій симбіотичної закваски (вітамінів B1, B12, інтерферону, протеолітичних ферментів, антибіотикоподібних сполук тощо).

Але виробництво відомого кисломолочного продукту у технологічному напрямі залишається складним, багатадійним, матеріалоемним. На думку заявника це зумовлене використанням зайвих різновидів біологічно активної сировини, насамперед, кукурудзяного крохмалю, як лактогенного та протекторного фактору, селеніту натрію, *Streptococcus thermophilus*, як заквашувального агента, доданням кефірних грибків. Втім, розрахунок на зв'язок властивостей кам'яних мінералів, як похідних елементів знаків Зодіаку, з покращенням біологічних властивостей продукту в індивідуалізованому напрямі є символічним і досить сумнівним. Збагачення молока трьома видами заквашувальної сировини відбивається на подовженні термінів технологічних процесів, насамперед, на тривалості витримки суміші після внесення молочнокислих стрептококів (біля 4 годин), її сквашування або виробництва стругку компонентів (до 7-8 годин), остаточної витримки при $T^{\circ} 10-12^{\circ}\text{C}$ (до 10-12 годин). Використання кам'яних мінералів також потребує зайвого часу на сквашування та дозрівання продукції.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити такий спосіб виробництва кисломолочного продукту, який шляхом оптимізації режиму кисломолочного сквашування забезпечує покращення технологічності без втрат біологічної цінності, при використанні.

Вищезазначений технічний результат при здійсненні корисної моделі досягається тим, що у відомому способі виробництва кисломолочного продукту, що включає

нормалізацію коров'ячого молока, пастеризацію, внесення біологічно активних речовин, гомогенізацію, перемішування, охолодження, введення закваски з використанням штаму *Lactobacillus acidophilus* у заданій кількості, сквашування при $T^{\circ} 38-40^{\circ}\text{C}$ до досягнення кислотності 70-80°T на протязі заданого часу, охолодження та розфасовку готової суміші, згідно з корисною моделлю, як біологічно активну добавку залучають згущений 70% екстракт цикорію, а штам *Lactobacillus acidophilus* вводять у вигляді суміші його слизуватих і не слизуватих рас, узятих у співвідношенні 20:80, при наступному співвідношенні інгредієнтів, мас. %:

раси штаму *Lactobacillus acidophilus*

2,0-5,0

згущений 70% екстракт цикорію

0,5-1,0

молоко коров'яче пастеризоване
решта.

Введення згущеного 70% екстракту цикорію в молочну суміш дозволяє збагатити продукт інуліном, полісахаридами, багатьма макро- та мікроелементами біологічно активних речовин. Інулін являє собою полісахарид із залишками фруктофуранозної фруктози. Його біологічна цінність полягає у позитивному впливі на обмін речовин протягом усього часу перебування в організмі. Інулін знижує рівень цукру в крові, холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїдів, нормалізує жировий і ліпідний обмін, без участі ферменту інсуліну у гідролізі полісахариду, що надає користь для хворих на цукровий діабет. Деякі похідні інуліну володіють протипухлинним механізмом, внаслідок утворення Ba- та Sn-комплексів, приймають участь у виводі важких металів з організму. Нерозчинна частина інуліну швидко виводиться з організму, зв'язуючи радіонукліди, кристали холестерину, жирні кислоти, хімічні сполуки, що потрапили в організм із жею чи в результаті життєдіяльності патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. Корисність згущеного 70% екстракту цикорію при компенсації біологічних властивостей кукурудзяного крохмалю та селеніту натрію за прототипом зумовлена тим, що у 100г екстракту цикорію утримується: 30г інуліну, 4,1г білкових речовин, 64г вуглеводів, 4,4мг натрію, 129мг калію, 2мг марганцю, 25мг кальцію, 0,7мг заліза, 26мг фосфору, вітаміни, насамперед, B1, B2, C, PP, також каротин, солі калію, пектини, корисні смоли, органічні кислоти, ефірні олії, глікозиди, дубильні елементи тощо, що не тільки зберігають біологічну та харчову цінність кінцевого продукту, але й спрощують технологічність його виробництва. Поряд із цим, використання штаму *Lactobacillus acidophilus*, як симбіотичної сировини, переважно у вигляді суміші його слизуватих і не слизуватих рас, дозволяє спростити

режим культивування бактерій та мезофільних молочнокислих стрептококів і усуває можливість контамінації продукту патогенною мікрофлорою, яка зростає при Т 38-40°C. Використання суміші слизуватих і не слизуватих рас *Lactobacillus acidophilus* у заданому співвідношенні виключає використання додаткового *Streptococcus thermophilus* для заквашування суміші, а від того, сприяє скороченню тривалості закваски та кількості перехідних підготовчих процесів. Пропонований склад живильного середовища та режим культивування інгредієнтів забезпечує поживлення та збільшення біологічної маси лактобактерій з інтенсивним нарощуванням біологічно активних продуктів метаболізму ацидофільних бактерій штаму, без залучення зайвих домішок. Це зумовлено тим, що ацидофільні палички підсилюють бактерицидні властивості та активують діяльність природних антибіотиків в організмі проти збудників захворювань ШКТ, пригнічують інфекційні процеси верхніх дихальних шляхів, у т.ч. й туберкульозу. Разом із цим, ацидофільні палички виробляють фолієву кислоту, біотин, вітаміни, приймають участь в стимуляції імунної системи, регуляції обмінних функцій, в нормалізації балансу мікрофлори.

За умов корисної моделі, використання суміші слизуватих і не слизуватих рас *Lactobacillus acidophilus* найбільш доцільне у співвідношенні 20:80, оскільки зв'язане з оптимізацією біологічної маси лактобактерій, нарощуванням продуктів метаболізму ацидофільних бактерій та виключенням необхідності залучення зайвих заквашувальних агентів біологічної спрямованості. Використання означеної суміші рас штаму *Lactobacillus acidophilus* має вплив на швидкість кислотоутворення, тому її ведення у кількості меншій, ніж 2,0мас %, є недоцільним, оскільки збільшує термін кислomолочного сквашування, викликає прояви контамінації продукції та зростає тривалість технологічного процесу. Ведення суміші рас штаму *Lactobacillus acidophilus* у кількості більшій, ніж 5,0мас %, також недоцільне, бо при культивуванні агентів викликає дисбаланс продуктів метаболізму ацидофільних бактерій та ускладнює технологічність виробництва за рахунок введення компенсаційних домішок. Використання згущеного 70% екстракту цикорію у кількості меншій, ніж 0,5мас %, є також недоцільним, оскільки утрачається біологічна цінність продукту, з-поза втрати рівня інуліну, полісахаридів, макро- та мікроелементів біологічно активних речовин, виникає потреба в доданні зайвих домішок, що ускладнює технологічність виробництва продукції. Введення згущеного 70% екстракту цикорію у кількості більшій, ніж 1,0мас %, недоцільне також, бо має зв'язок із порушенням балансу зросту рівня ацидофільних паличок та стимулюючої дії

інуліну, а його коригування має вплив на тривалість технологічного процесу.

Отже, використання суміші слизуватих і не слизуватих рас штаму *Lactobacillus acidophilus*, як агента для закваски, та згущеного 70% екстракту цикорію, як біологічно активної добавки, дозволяють зберегти біологічну цінність виробленого кислomолочного продукту. Сукупність цих інгредієнтів і пропоновані режими їх дозування в суміші дозволяють істотно спростити технологічність процесу, бо скорочується низка операцій щодо дозування, внесення, перемішування, молочнокислих стрептококів, кукурудзяного крохмалю, селеніту натрію, кефірних грибків і кам'яних мінералів, а сумарний термін сквашування, визрівання й витримки отриманого продукту зменшується у 5-6 разів.

На підставі вищенаведеного аналізу можливо зробити висновок, що сукупність відмітних ознак способу виробництва кислomолочного продукту за наданих умов забезпечує покращення технологічності без втрати його біологічної цінності при використанні. Втім, кожна з вищезазначених ознак в окремоті є необхідною, бо вилучення будь-якої із запропонованої сукупності стримує досягнення очікуваного технічного результату, а сукупність цих ознак є суттєвою, бо має з ним причинно-слідчий зв'язок.

Відомості, які підтверджують можливість здійснення способу з досягненням заявленого технічного результату полягають в наступному.

Спосіб виробництва кислomолочного продукту включає нормалізацію коров'ячого молока, пастеризацію, внесення згущеного 70% екстракту цикорію, як біологічно активної речовини, гомогенізацію, перемішування, охолодження, введення штаму *Lactobacillus acidophilus*, як закваски, у вигляді суміші його слизуватих і не слизуватих рас, узятих у співвідношенні 20:80, сквашування при Т 38-40°C до досягнення кислотності 70-80°Т на протязі заданого часу, охолодження та розфасовку готової суміші, при наступному співвідношенні інгредієнтів, мас. %:

згущений 70% екстракт цикорію 0,5-1,0

раси штаму *Lactobacillus acidophilus* 2,0-5,0

молоко коров'яче пастеризоване

решта.

За цих умов, спрощення технологічності процесу досягається скороченням чисельності операцій та сумарного терміну сквашування, визрівання й витримки отриманого продукту більше ніж у 5-6 разів, особливо, від скорочення терміну витримки суміші після пастеризації, що усує також і контамінацію продукту патогенною мікрофлорою, а екстракція біологічно активних речовин цикорію в молочну суміш відбувається одночасно з пастеризацією, його інулінова фракція,

вітаміни, корисні макро- та мікроелементи, білки й інші біологічно активні речовини збагачують молочну суміш.

Приклад. У молочну гомогенизовану сировину під тиском $15,0 \pm 2,5$ МПа, при T 45°C , вводили згущений 70% екстракт смаженого цикорію, у кількості 1% до маси суміші. Перемішували, пастеризували при T 85°C з витримкою на протязі 7хв. До охолодженої молочно-цикорієвої суміші, наприклад, до T сквашування $37-40^{\circ}\text{C}$, додавали закваску у вигляді комбінаторного сполучення не слизуватих і слизуватих штамів *Lactobacillus acidophilus* (80:20). Кількість внесеної закваски становила 3% в масі суміші. Сквашували при T $37-40^{\circ}\text{C}$ на протязі 5 годин. Закінчення сквашування визначали по утворенню досить щільного згустку та кислотності, що не перевищувала 80°T . Отриману суміш гомогенізували шляхом перемішування, прохолоджували до T $6 \pm 2^{\circ}\text{C}$, розфасовували у споживчу тару та зберігали в холодильній камері.

Органолептично отриманий напій мав вигляд однорідної, у міру густої, текучої консистенції, білого кольору з кремовим відтінком, чистим кисломолочним смаком і присмаком цикорію. Кількість життєздатних клітин бактерій ацидофільних паличок у 1 см³ готового продукту, становила понад $1,0 \times 10^7$ КОЕ, що підтверджує наявність високої біологічної активності продукту, кислотність - 80°T , а термін збереження, без змін смакових якостей і відділення сироватки, відповідав 36 годинам, що забезпечувалось оптимальним впливом на бактеріальні клітини кислото-молочного продукту з боку живильного середовища і режиму культивування цикорію. Пропонований продукт мав антидіабетичні, імуномодулючі, антитоксичні властивості за рахунок збагачення його інуліном й іншими полісахаридами, мікро- і макроелементами, вітамінами та біологічно активними речовинами, що утримуються в екстракті цикорію. Оптимальний рівень кислотності та сполучення антибіотичних і бактерицидних властивостей ацидофільної палички, імуномодельючих, антитоксичних

і антидіабетичних властивостей екстракту підтверджують наявність біологічної активності продукту, що сприяє поширенню його утилітарних властивостей в лікувально-профілактичному харчуванні та дієтології, наприклад при захворюваннях на туберкульоз легень і цукровий діабет, в регулюванні обмінних процесів шлунково-кишкового тракту, в поліпшенні атеросклеротичних змін серцево-судинної системи, в попередженні розвитку захворювань, що виникають внаслідок гноблення антибіотиками корисної мікрофлори, та надають зміцнювальних, тонізуючих властивостей при виснаженні, недокрів'ї, астенії, порушенні ритму життя.

Отже, заявлений об'єкт можливо пропонувати до виробництва натуральних продуктів-синбіотиків, що приходять на зміну антибіотичним і хімічним препаратам у регулюванні мікробіоценозу, функціональних процесів в організмі. Використання способу в молочній промисловості допоможе поширити виробництво кисломолочних виробів лікувально-профілактичного та дієтичного напрямку, завдяки покращенню технологічних умов їх виготовлення, та реалізувати їх харчові, біологічні й лікувально-профілактичні властивості, що зумовлені вмістом біологічно активних сполук і елементів використаних добавок, при використанні.

Джерела інформації:

1. Спосіб получения ацидофилина: Пат. 2102898 России, МПК A23C9/127 / Смирнов АА, Иоффе Н.П., Капцова Н.В., Антроповская М.А (Россия); Закрытое акционерное общество «Санкт-Петербургский молочный завод» (Россия). - №96114677/13; заявл. 16.07.96; опубл. 27.01.98.

2. Спосіб производства кисломолочного продукта «Радужный»: Пат. 2132136 России, МПК A23C9/12 / Аракелян Р.А (Армения), Анисимова Т.И. (Россия). - №98120413; заявл. 17.11.98; опубл. 27.06.99.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 2615 (13) U

(51) 7 A61K33/06, A61N1/30, A61N1/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ІШЕМІЧНОЇ ХВОРОБИ СЕРЦЯ

1

(21) 2004031606

(22) 04.03.2004

(24) 15.06.2004

(46) 15.06.2004, Бюл. № 6, 2004 р.

(72) Мілославський Фелікс Аркадійович, Дзяк Георгій Вікторович, Можейко Олександр Миколайович, Постолов Олег Михайлович, Тавлєєв Олександр Валентинович, Дроздов Олексій Леонідович, Нудьга Петро Олександрович

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКЕ ЗАКРИТЕ
АКЦІОНЕРНЕ ТОВАРИСТВО НАУКОВО-МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР "КЛІНІКА СІМЕЙНОЇ МЕДИЦИНИ"

2

(57) 1. Спосіб профілактики та лікування ішемічної хвороби серця, що включає проведення базисної терапії та вплив негативним тиском $0,3-0,5 \text{ кгс/см}^2$ на рівні $З_{2-37}$ і $Д_{1-6}$ у постійному режимі на паравертебральні точки за допомогою лікувальної камери, який відрізняється тим, що додатково при базисній терапії впливають магнієвою сіллю оротової кислоти перорально, у кількості 2,0-2,5 г тричі на добу, під наглядом терапевта.

2. Спосіб профілактики та лікування ішемічної хвороби серця за п.1, який відрізняється тим, що базисну терапію супроводжують впливом 5-25% водного розчину бішофіту на комірцеву зону, у заданому форетичному режимі.

Корисна модель відноситься до медицини, наприклад, до використання ліків і медикamentів, які містять неорганічні активні інгредієнти, зокрема солі магнію чи їх сполуки, і може бути використаною в кардіології, насамперед для лікування та профілактики серцевих патологій, які можна лікувати з використанням гімнастики.

З рівня техніки, що був встановлений під час пошуку, відома критичність коронарного атеросклерозу у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) не тільки до уживаних хіміопрепаратів [1], але й навіть до бальнеологічних засобів [2] та фізичних вправ під час профілактики. З цього приводу в індивідуалізації профілактично-лікувальних заходів існує чимало труднощів.

Відомий спосіб ранньої фізичної реабілітації хворих на ішемічну хворобу серця що містить 4-місячний курс спеціалізованих фізичних тренувань та велоергометричні вправи на тренажерах помірної інтенсивності, під ретельним контролем частоти серцевих скорочень (ЧСС), при цьому інтенсивність вправ зумовлюють показаннями індивідуальної граничної і ЧСС у спокої до адекватного навантаження у математичній моделі [3]. За цих умов шляхом індивідуалізації інтенсивності

навантажень поліпшують роботу серцевого м'яза та попереджують розвиток у хворого критичного стану. Проте, як інформують властивості відомого технічного рішення, індивідуалізація інтенсивності навантажень націлена лише на попередження появи цього болючого синдрому при фізичному навантаженні.

До причин, що запобігають отриманню очікуваного технічного результату належать реальна можливість виникнення болювого синдрому при фізичному навантаженні та відсутність швидкого за розвитком істотного лікувально-профілактичного ефекту.

Найбільш близьким по кількості істотних ознак до об'єкта, що заявляється є спосіб профілактики та лікування ішемічної хвороби серця, що включає проведення базисної терапії та вплив негативним тиском $0,3-0,5 \text{ кгс/см}^2$ на рівні $З_{2-37}$ і $Д_{1-6}$ у постійному режимі на паравертебральні крапки за допомогою лікувальної камери [4]. Вплив здійснюють протягом 3 хвилин, а курс лікування становить по 10-15 процедур щодня. Даний метод за рахунок рефлекторного впливу дозволяє поліпшити кровопостачання серцевого м'яза, що сприяє деякому зниженню частоти виникнення та інтенсивності

больового синдрому при фізичному навантаженні, а його властивості придатні як до профілактики, так і до лікування хворих на ІХС.

Недоліками відомого способу є низька чутливість хворих до подібних лікувально-профілактичних курсів та їхня недостатня ефективність. Це обумовлено швидким виникненням почуття втоми, підвищенням частоти серцебиття та можливістю травмування м'язів грудної клітини й серця, тому що кількість щоденних процедур на курс є занадто високою і вимагає математичного моделювання індивідуальних курсів профілактики ІХС [1]. Теоретичними передумовами цих наслідків можливо вважати дисплазію сполученої тканини серця, внаслідок хаотичного розташування волокон колагену, як основної морфологічної особливості, що сприяє виникненню коронарного атеросклерозу та больового синдрому серцевої м'язи та дефіцит магнію у вищезазначених тканинах. З огляду зведень щодо дефіциту магнію в порушенні функції фібробластів можливо припустити, що зміни біосинтетичної функції фібробластів і порушення структури екстра-целюлярного матриксу пов'язані з дефіцитом магнію, відповідного за укладання волокон колагену в четвертинну структуру [5]. Реалізація цього тлумачення доведена деякими науковими дослідженнями й технічними рішеннями, наприклад, використанням бішофіту, що збагачений солями магнію, для лікування гіпертонічної хвороби [6] або синдрому гіперкоагуляції [7] тощо.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити такий спосіб профілактики та лікування ішемічної хвороби серця, який шляхом упорядкування волокон колагену в четвертинній структурі за рахунок їх насичення магнієм забезпечує підвищення чутливості хворих до лікувально-профілактичних курсів та ефективності лікування при використанні.

Вищезазначений технічний результат досягається тим, що при здійсненні відомого способу профілактики та лікування ішемічної хвороби серця, що включає проведення базисної терапії та вплив негативним тиском $0,3-0,5 \text{ кгс/см}^2$ на рівні S_2 , S_3 і D_1-6 у постійному режимі на паравертебральні крапки за допомогою лікувальної камери, у відповідності з пропозицією, додатково при базисній терапії впливають магнієвою сіллю оротової кислоти, перорально, у кількості 2,0-2,5г тричі на добу, під терапевтичним наглядом, за умов, що базисну терапію супроводжують впливом 5-25% водного розчину бішофіту на комірцеву зону, у заданому форетичному режимі.

Вплив магнієвою сіллю оротової кислоти дозволяє покращити функцією фібробластів разом з вмістом РНК у цитоплазмі фібробластів дерми, що зумовило підвищення біосинтетичної активності останніх і поновлення біосинтезу більшості з компонентів матриксу у сполученій тканині. У відповідності з цим, запропонований дозовий режим використання магнієвої солі оротової кислоти у кількості 2,0-2,5г тричі на добу є найбільш оптимальним, за умов, що базисну терапію супроводжують впливом на комірцеву зону 5-25% водного розчину бішофіту, у заданому форетичному режимі. Використання магнієвої солі оротової кислоти у

кількості меншій 2,0г є недоцільним, бо послабляє біосинтез компонентів матриксу у сполученій тканині і ефективність лікувально-профілактичного заходу. Вплив більшою від 2,5г дозою є економічно невиправданим. Побічних впливів пропонованого препарату на функціонування органів і систем не встановлено. Посилення ефекту зумовлене супроводженням базисної терапії впливом водного розчину бішофіту, на комірцеву зону 5-25%, у заданому форетичному режимі. Це зумовлене тим, що до мінерального складу бішофіту входять солі магнію, калію, кальцію, заліза, бору, цинку, марганцю, бром, літію тощо. Використання кальцію найбільш доцільне для поліпшення фаз згортання крові, для утворення та активації кров'яного тромбобластину, покращення умов перетворення протромбіну в тромбін, фібрिनотому в фібрин, активації синтезу проакселину в акселин та проконвертину в конвертин. Решта мікроелементів, які входять до складу бішофіту, стимулюють тканинне дихання, окислювальні процеси, реакції переамінування, декарбоксилування та компенсацію негативного балансу меді. Відомо також, що бішофіту властиві протизапальні, спазмолітичні, знеболюючі, імуномодулюючі та протимікробні властивості [6, 7]. Комплексне використання властивостей елементів, що входять до магнієвої солі оротової кислоти та бішофіту сприяло посиленню лікувально-профілактичних заходів у хворих на ІХС, завдяки упорядкуванню волокон колагену в четвертинній структурі на тлі поліпшення тканинного дихання та покращення спазмолітичного, знеболюючого, імуномодулюючого й гіпокоагуляційного ефектів, разом із покращенням чутливості хворих до лікувально-профілактичних курсів.

При цьому використанні форетичної форми бішофіту самостійного правового значення не має і додається для уточнення умов перевершеної заявленої технічної результату.

За даними холтеровського моніторингу ЕКГ після проведеного курсу профілактичного лікування хворих на ІХС встановлено достовірне зменшення середньої ЧСС на 6,8%, кількості епізодів ІХС на 33,3%, тахікардії на 42,7%, тривалості інтервалу QT й кількості шлуночкових екстрасистол на 34,8%. За даними добового моніторингу спостерігалось достовірне зниження середнього систолічного та діастолічного АТ до нормальних значень, гіпертонічного навантаження. Дані результати підтверджують раніше встановлений факт, що між рівнем магнію в тканинах і рівнем АТ існує зворотна залежність, а також той факт, що дефіцит магнію є одним з патогенетичних ланок розвитку ІХС. Після лікування виявлене зменшення глибини проказування мітрального клапана, достовірне зменшення числа пацієнтів з гіперсимпатикотонією, при цьому збільшилася кількість осіб з рівним тиском обох відділів вегетативної нервової системи.

Отже, кожна з вищезазначених ознак пропонованого рішення задачі в окремість є необхідною, бо вилучення будь-якої з запропонованої сукупності стримує досягнення очікуваного технічного результату, а сукупність останніх є суттєвою, бо має причинно-слідчий зв'язок з технічним результатом.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 2616 (13) U
(51) 7 G01N33/48, G01N33/53МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗЛАДІВ ПАМ'ЯТІ У ЛЮДИНИ

1

(21) 2004031607

(22) 04.03.2004

(24) 15.06.2004

(46) 15.06.2004, Бюл. № 6, 2004 р.

(72) Мілославський Фелікс Аркадійович, Можейко
Олександр Миколайович, Постолов Олег Михай-
лович, Тавлєєв Олександр Валентинович, Дзяк
Людмила Антонівна, Дроздов Олексій Леонідович,
Нудьга Петро Олександрович(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКЕ ЗАКРИТЕ
АКЦІОНЕРНЕ ТОВАРИСТВО НАУКОВО-

2

МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР "КЛІНІКА СІМЕЙНОЇ МЕДИ-
ЦИНИ"(57) Спосіб прогнозування розладів пам'яті у лю-
дини, що включає відбір проби сироватки крові,
кількісне визначення в ній експресії гліального
фібрилярного кислого білка
як показника змін рівня нейропептидів мозку та
формування висновку, при цьому встановлюють
зниження рівня регенерації нервових елементів чи
фазу погіршення пам'яті, якщо кількість експресії
гліального фібрилярного кислого білка становить
менше від норми.

Корисна модель відноситься до медицини, на-
самперед, до дослідження чи аналізу матеріалів
особливими способами, переважно біологічних,
наприклад крові, до імуноферментних досліджень,
і може бути використаним в теоретичній або
клінічній неврології, психології, невропатології та
інших галузях медицини.

Формування енграм пам'яті часто призводить
до утворення нових синаптичних зв'язків між стру-
ктурами головного мозку, що відбивають форму-
вання поведінкових актів, тому переважне значен-
ня у процесах консолідації, збереження і
відтворення пам'ятного сліду наділяється клітинам
астроцитарної глії, які виконують трофічні функції
по відношенню до нейронів [1].

З досліджень рівня техніки встановлено, що в
процесах консолідації, збереження та відтворення
енграм пам'яті значну роль виконують клітини ас-
троцитарної глії, а до складу протеїнового цитоске-
лету, що зумовлює форму, обсяг клітин і стан їх-
ньої поверхневої мембрани, входить глікопротеїн,
наприклад гліальний кислий фібрилярний білок
(ГФКБ) у проміжних філаментах астроцитів, що
відбиває стан нейрон-гліальних взаємодій [2]. За
умов відомого способу структурно-функціональної
оцінки формування умовної реакції активного уни-
кнення тварини показник концентрації ГФКБ в тка-
нинних структурах головного мозку забезпечує
кількісну оцінку стану пам'ятного сліду [4]. При
цьому рівень експресії цього глікопротеїну надає
можливість порівнювати динаміку змін поведінко-

вих актів зі зміною вмісту білка, відповідального за
процеси структурного формування та функціона-
льної активності астроцитів, які оптимізують тро-
фічні функції щодо нейронів окремих утворень
головного мозку при формуванні мнестичних про-
цесів, а від того, гарантують отримання прийнят-
них результатів під час реєстрації реакції активно-
го уникнення тварини чи оцінки відтворення слів
пам'яті.

Тож, наявність пропорційного зв'язку між фор-
муванням умовної реакції та кількістю ГФКБ в
структурах головного мозку після початку навчан-
ня тварини та вироблення відповідної умовної ре-
акції дозволяє оцінити ступінь і тривалість участі
окремих утворень головного мозку в процесі фор-
мування пам'яті.

Але відома закономірність не може знайти
практичного застосування в клінічній практиці у
зв'язку з неможливістю отримання мозкової ткани-
ни людини, як препарату для досліджень експресії
ГФКБ, і цим стримує межі її використання.

Разом із тим, аналоги щодо прогнозування
розладів пам'яті у людини на цьому рівні залиши-
лися не виявленими, а вищезгадані об'єкти харак-
теризуються іншим функціональним призначен-
ням. Тобто, на сучасному рівні розвитку даного
рішення немає збігу призначення, до характери-
стик якого має відношення «прогнозування роз-
ладів пам'яті людини», як указівка функції, а
відсутність подібності до засобу пропонованого
призначення дозволяє прийти до об'єктивного

висновку про те, що корисна модель на даному етапі аналога не має, що стримує поділ формули правового захисту на частини.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити такий спосіб прогнозування розладів пам'яті у людини, який шляхом реєстрації змін рівня нейропептидів мозку забезпечує прийнятну інформативність для використання в клінічній практиці.

Вищезазначений технічний результат при здійсненні корисної моделі досягається тим, що спосіб прогнозування розладів пам'яті у людини, згідно до пропозиції, містить відбір проби сироватки крові, кількісне визначення в ній експресії гліального фібрилярного кислого білку, як показника змін рівня нейропептидів мозку, та формування висновку, при цьому встановлюють зниження рівня регенерації нервових елементів чи 4>азу погіршення пам'яті, якщо кількість експресії гліального фібрилярного кислого білку становить менше від норми.

Для оцінки стану експресії нейропептидів мозку без залучення тканин мозкового утворення запропоновано використання кількісних змін ГФКБ в сироватці крові. Заявлений технічний результат ґрунтується на встановленій закономірності відбиття наслідків синтезу, депонування та елімінації ГФКБ у мнестичних процесах через гематоенцефалічний бар'єр в систему кровообігу під час вироблення пам'ятного сліду або його штучного пригнічення та реєстрації відповідних змін регенерації нервових елементів в крові за кількісними критеріями.

Серія іспитів, що підтвердила можливість відтворення способу з досягненням очікуваного результату, була відтворена шляхом твердофазного імуноферментного аналізу. Використали спектрофотометр для мікропланшет, ультрацентрифугу VAC-25, буферні розчини для виготовлення мембранних фракцій аналізату на основі: 0,25Мм Трис-HCl: 1мМ EDTA; 2мМ β -меркаптоетанолу; 0,2мМ PMSF; 0,02% NaNO_3 ; 2% Трилону X-100, а для кількісного визначення експресії ГФКБ - сироватку крові хворих що перебували у стаціонарі з приводу лікування розладів пам'яті.

Сутність способу полягає у відборі у хворого на розлад пам'яті з першого дня лікування проби сироватки крові й дослідженні в ній імуноферментним шляхом кількості експресії ГФКБ, як показника стану нейропептидів мозку, по відношенню до норми. Для виготовлення мембранних фракцій аналізату залучають вищезазначені буферні розчини, а для вимірів експресії глікопротеїну в пробі - спектрофотометр, точність вимірів становить $\pm 0,001\text{нг/мл}$. Результати аналізують та порівнюють з нормативними. Внаслідок синтезу, депонування та елімінації глікопротеїну у мнестичних процесах через гематоенцефалічний бар'єр в систему кровообігу забезпечується можливість реєстрації рівня регенерації нервових елементів в сироватці крові за кількісними критеріями. Зниження рівня регенерації нервових елементів чи фаза погіршення пам'яті встановлюються за падінням рівня експресії гліального фібрилярного кислого білку по відношенню до норми. У залежності від інтенсивності відхилення експресії глікопротеїну

від нормативного значення обирають ту чи іншу схему терапії. Через тиждень дослідження стану нейропептидів мозку у хворого повторюють та здійснюють індивідуалізоване коригування лікувальної тактики. При цьому надається можливим встановити прогресування патологічного стану, якщо зниження рівня експресії гліального фібрилярного кислого білку спостерігається по відношенню до попереднього стану.

Різниця концентрації ГФКБ в плазмі крові у хворих з розладами пам'яті та здорових людей дає можливість використовувати величину концентрації ГФКБ в сироватці крові за новим клінічним призначенням, як об'єктивного оціночного критерію стану мнестичних процесів.

Приклад.

Хворий Р., 69 років, знаходився у стаціонарі з приводу лікування розладу пам'яті. На початку лікування в пробі сироватки його крові імуноферментним шляхом досліджували показник експресії глікопротеїну, як показника стану нейропептидів мозку по відношенню до норми. Імуноферментним шляхом у відібраному аналізаті за 3 послідовні інтервали визначали концентрацію гліального фібрилярного кислого білку. Рівень регенерації нервових елементів, який встановлювався пропорційно до усередненої кількості експресії ГФКБ, перевищував норму та інформував про наявність фази погіршення пам'яті. Надалі значення показника стану нейропептидів бралось до контролю і було підґрунтям у розробці комплексу індивідуалізованого лікування. На 7 добу детектування розладу пам'яті повторювали. Результати інформували про можливість виходу з кризи, бо рівень регенерації нервових елементів прагнув до нормативного значення.

Властивості способу дозволяють кваліфікувати його корисним, бо забезпечують реєстрацію стану нейропептидів мозку на прийнятному рівні інформативності при використанні в клінічній практиці.

Отже, виявлена закономірність змін нервових зв'язків мозку з кількісною експресією гліального фібрилярного кислого білку в сироватці крові відбиває динаміку розладів пам'яті, чим забезпечує детектування мнестичних процесів, з можливістю подальшого терапевтичного коригування.

Джерела інформації:

1. Ройтбак А.И. Нейроглия и образование новых нервных связей в коре мозга /Механизмы формирования и торможения условных рефлексов. М.:Наука, 1973, С.82-94.
2. Fuchs E., Weber K. Intermediate filament: structure, dynamics, function and disease // Ann. Rev. Biochem. -1994. -V.63. -Р.345-382.
3. Спосіб структурно-функціональної оцінки формування умовної реакції активного уникнення тварини: Пат. №444400 України, МПК А61В5/0484 / Дроздов О.Л., Дзяк Л.А., Дука Т.І., Чорна В.І. (Україна). -№2000031752; заявл.28.03.2000; опубл. 15.02.02.
4. Дзяк Л.А., Дука Т.І., Дроздов О.Л. й інші / Гліальний кислий білок у структурах мозку щурів при виробленні пасивно-оборонного навику // Нейрофізіологія. -1999. -Т.31. -№4. -С.348-349.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 2617 (13) U

(51) 7 A61B5/0484

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ВИРАЗКОВОЇ ХВОРОБИ ШЛУНКА

1

(21) 2004031608

(22) 04.03.2004

(24) 15.06.2004

(46) 15.06.2004, Бюл. № 6, 2004 р.

(72) Мілославський Фелікс Аркадійович, Можейко
Олександр Миколайович, Постолюк Олег Михай-
лович, Тавлеєв Олександр Валентинович, Дзяк
Людмила Антонівна, Дроздов Олексій Леонідович,
Нудьга Петро Олександрович(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКЕ ЗАКРИТЕ
АКЦІОНЕРНЕ ТОВАРИСТВО НАУКОВО-
МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР "КЛІНІКА СІМЕЙНОЇ МЕДИ-
ЦИНИ"

2

(57) Спосіб оцінки ефективності лікування виразкової хвороби шлунка, що включає дослідження стану слизової оболонки, кількісне визначення в ній експресії біологічної речовини та формування висновку, який відрізняється тим, що як біологічну речовину використовують гліальний фібрилярний кислий білок з властивостями маркера астроцитарних елементів нейрогезії, та по збільшенню в ньому рівня регенерації нервових елементів по відношенню до норми встановлюють наявність фази загострення виразки.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до визначення, виміру або реєстрації з діагностичною ціллю, здебільшого по виклику відповідної реакції, і може бути використаною в гастроентерологічній клініці.

Відомий спосіб оцінки ефективності лікування виразкової хвороби шлунка, що включає виміри електрошкірного опору та шкірної температури на меридіанах потрійного обігрівача, товстої кишки та підшлункової залози та формування висновку по відхиленні цих параметрів від норми [1]. Серед засобів електропунктурної діагностики надане технічне рішення характеризується прийнятною точністю, але дослідження біологічної активності виразкової хвороби шлунка у порівнянні з мікроскопічною, біохімічною та імунноморфологічною діагностикою залишається поверхневим і ризикованим. Бо досліджувані критерії сполучені з множиною органічних та енергетичних процесів і спроможні до викривлення можливостей отримання уявлень про натуральний етіопатогенез виразкової хвороби, особливо при необхідності встановлення її патологічної фази.

Відомий спосіб оцінки ефективності лікування виразкової хвороби шлунка, що включає відбір і наступні дослідження аналізу при патології й нормі та формування висновку по відхиленні його параметрів від норми. Разом із цим, як аналіз використовують слину, а до її проби додають краплю речовини, що утворює кристали.

Отриманий препарат витримують протягом доби при кімнатній $T^{\circ}C$ й нормальній вологості, у горизонтальному положенні, удаліні від прямих сонячних променів і нагрівальних приладів, і досліджують мікроскопічним шляхом. При формуванні висновку по плямистому характеру забарвлення кристалів встановлюють початок фази загострення, по рівномірно темному - пік загострення, по виходу темних округлих плям за межі кристалів фазу загасання загострення, а по слабкому темному забарвленню чи відсутності забарвлення кристалів - фазу ремісії. За цих умов можливе дослідження хронічного гастродуоденіту, виразкової хвороби шлунка й дванадцятипалої кишки [2]. Відзнакою об'єкта є використання більш точних мікроскопічних досліджень, поширення інтерпретаційних можливостей при оцінці ефективності лікування захворювання, прагнення до об'єктивізації досліджуваних параметрів, що декілька зменшує викривлення оцінки результатів лікування. Проте використання слини, речовини, що утворює кристали, як зайвої домішки, розрахунок лише на характер забарвлення кристалів, що є критичним до $T^{\circ}C$ й вологості атмосфери, сонячного опромінення та умов витримки підготовлюваного препарату, разом із відсутністю кількісних параметрів оцінки ще запобігають отриманню більш високих результатів. Це зумовлено, переважно тим, що слина залишається замало інформативною речовиною в оцінці реакції

епітелію шлунка на терапевтичні заходи, хоча й приймає участь в діяльності травної системи. Оцінка характеру забарвлення кристалів стримує можливість якісної ідентифікації симптомів виразкової хвороби шлунка. Поміж тим, сукупність наданих ознак свідчить й про замалу оперативність та технологічну складність відтворення об'єкта-аналога.

Найбільш приближеним по кількості істотних ознак до корисної моделі, що заявляється, є спосіб оцінки ефективності лікування виразкової хвороби шлунка, що включає дослідження стану слизової оболонки, кількісне визначення в ній експресії біологічної речовини після отримання результатів імуногістохімічної реакції антитіл, досліджують трофобластичний бета-1-глобулін (ТБГ). Для цього виконують зрізи тканин, з наступним обліком продуктів реакції в елементах покривно-язвочного, нормального епітелію, перешийку, днині, тілі залоз та у вогнищах кишкової метаплазії й дисплазії. [3]. Втім, дослідження експресії ТБГ в епітелії шлунку після хімічного впливу дозволило детектувати стан морфофункціональних змін в покривно-язвочному епітелії, днині, тілі залоз й перешийкові та інших структурних і клітинних елементах слизової оболонки, підлеглих трансформації або розташованих поза вогнищем структурної зміни тканини епітелію, що при оцінці результатів лікування виразки може сприяти уточненню уявлень щодо морфологічного стану шлунку з наступним коригуванням лікувального впливу.

Але використання прототипу вимагає проведення імуногістохімічної реакції з використанням антитіл проти ТБГ на зрізах тканин, наступного обліку продуктів реакції в елементах покривно-язвочного, нормального епітелію, перешийку, днині, тілі залоз та у вогнищах кишкової метаплазії й дисплазії, що ускладнює технічне рішення та знижує оперативність.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити такий спосіб оцінки ефективності лікування виразкової хвороби шлунка, який імуноферментним шляхом реєстрації змін рівня регенерації нервових елементів в структурних і клітинних елементах епітелію забезпечує спрощення та поліпшення оперативності при використанні.

Вищезазначений технічний результат при здійсненні корисної моделі досягається тим, що у відомому способі оцінки ефективності лікування виразкової хвороби шлунка, що включає дослідження стану слизової оболонки, кількісне визначення в ній експресії біологічної речовини та формування висновку, у відповідності з корисною моделлю, як біологічну речовину використовують гліальний фібрилярний кислий білок, з властивостями маркера астроцитарних елементів нейролгезії, та по збільшенню в ньому рівня регенерації нервових елементів по відношенню до норми встановлюють наявність фази загострення виразки.

Відмітними ознаками пропонованого рішення задачі є дослідження гліального фібрилярного кислого білка, як маркера астроцитарних елементів нейролгезії, що відбиває морфологічний стан

епітелію структурних і клітинних елементів епітелію шлунку під час лікування, та встановлення фази загострення виразки, переважно по збільшенню в ньому рівня регенерації нервових елементів.

Розрахунок на дослідження експресії гліального фібрилярного кислого білку пов'язаний з фактом регенерації нервових елементів в слизовій оболонці шлунку. Це дозволяє виключити необхідність здійснення імуногістохімічної реакції, зрізи тканин, облік продуктів реакції в багатьох структурних і клітинних елементах епітелію шлунка, а від того, забезпечити спрощення та оперативність тестування. Посилення технічного результату зумовлене встановленням взаємозв'язку між формуванням реакції (чи її відсутністю) та участю гліального фібрилярного кислого білку в утворенні слідів астроглії в тканинах епітелію шлунка, а також зміною кількості глікопротеїну, що генерується по відношенню до норми, внаслідок деструктуризації структурних і клітинних елементів епітелію шлунка.

Зміну рівня регенерації нервових елементів визначають пропорційно до зміни кількості гліального фібрилярного кислого білка в епітелії шлунка, переважно шляхом твердофазного імуноферментного аналізу, з використанням спектрофотометра для мікропланшет та ультрацентрифуги VAC-25. При цьому мембранну фракцію виготовляють на буферному розчині: 0,25мМ Трис-НСl; 1мМ ЕДТА; 2мМ β -меркаптоетанолу; 0,2мМ PMSF; 0,02% NaNO₃; 2% Трилону X-100.

Сутність способу полягає в тому, що з перших днів лікування у хворого відбирають пробу епітелію шлунка, в якому імуноферментним шляхом визначають концентрацію гліального фібрилярного кислого білку, як маркера астроцитарних елементів нейролгезії. За 3 послідовні інтервали досліджень виявляють кількісний вміст глікопротеїну в структурних елементах і тканинах епітелію шлунку, з точністю вимірів маси $\pm 0,001$ мкг/мг, отримані дані усереднюють. Пропорційно до кількісної експресії гліального фібрилярного кислого білку в епітелії шлунка встановлюють рівень регенерації нервових елементів аналізу. У залежності від ступеня активності білка що генерується обирають схему терапії. Якщо на закінченні курсу встановлюють збільшення рівня регенерації нервових елементів до норми, то встановлюють наявність фази загострення виразки і посилюють лікувальну тактику, а на разі зменшення рівня маркера астроцитарних елементів нейролгезії виявляють ремісію та приступають до профілактичних заходів.

Приклад.

Хворий Ч., 47 років, знаходився у стаціонарі з приводу лікування виразкової хвороби шлунку. На початку лікування проведена гастроскопія, встановлена виразка розміром 22мм, з кровотечею; відібрали пробу епітелію шлунка. Імуноферментним шляхом у відібраному аналізаті за 3 послідовні інтервали визначили концентрацію гліального фібрилярного кислого білку. Рівень регенерації нервових елементів, який встановлювався пропорційно до усередненої кількості експресії гліального фібрилярного кислого білка, перевищував норму та інформував про наявність фази за-

гострення виразки. Надалі значення маркера нейролгезії бралось до контролю і служило підґрунтям до розробки комплексних хіміотерапевтичних заходів. На 10 добу лікування проводили повторне детектування морфологічного стану шлунка. Контрольне значення маркера нейролгезії було зменшеним, хоча рівень регенерації нервових елементів ще перевищував нормативне значення. Продовження лікування було доцільним з переважним використанням коригувальних засобів, бо стан виразки прагнув до регресу.

Властивості способу дозволили кваліфікувати його корисним, бо необхідність проведення імуногістохімічної реакції, використання антитіл, виконання зрізів тканин, облік продуктів реакції в кожному з досліджуваних елементів епітелію шлунку та у вогнищах кишкової метаплазії й дисплазії були виключеними, а відтворення способу у наданому вигляді дозволило переконатися у його спрощенні та оперативності.

Отже, виявлена закономірність змін нервових зв'язків з кількісною експресією гліального фібрилярного кислого білку в структурах епітелію шлунка відбиває динаміку його злоякісних морфофунк-

ціональних змін і забезпечує оцінку, з можливістю подальшого коригування терапевтичного впливу.

Джерела інформації:

1. Способ диагностики язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки: Пат 2161906 России, МПК А61В/053 / Бутов М.А., Кузнецов П.С., Луняков А.С. (Россия); Рязанский государственный университет им. И.П.Павлова (Россия). - №97100402/14; Заявл. 14.01.97; Опубл. 20.01.01.

2. Способ определения фазы хронического гастродуоденита, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки: Заяв. 2000123418 России, МПК G01N33/48 / Воробьев А.В., Артемова А.В. (Россия); Военно-медицинский институт Федеральной пограничной службы РФ при Нижегородской государственной медицинской академии (Россия). - №2000123418/14; Заявл. 11.09.00; Опубл. 10.08.02.

3. Способ иммуноморфологической диагностики рака желудка: Пат. 2099715 России, МПК G01N33/53 / Франк Г.А., Пугачев К.К., Шимбирева И.Б., Белоус Т.А., Фофанов В.И. (Россия); Московский научно-исследовательский онкологический институт им.П.А.Герцен (Россия). - №94023728/14; Заявл.23.06.94; Опубл. 20.12.97.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 2618 (13) U
(51) 7 A61B10/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОБҐРУНТУВАННЯ ЛІКУВАЛЬНОЇ ТАКТИКИ ПРИ ТЕРАПІЇ БРОНХІАЛЬНИХ ОБСТРУКЦІЙ

1

(21) 2004031609

(22) 04.03.2004

(24) 15.06.2004

(46) 15.06.2004, Бюл. № 6, 2004 р.

(72) Мілославський Фелікс Аркадійович, Можейко
Олександр Миколайович, Постолов Олег Михай-
лович, Тавлєєв Олександр Валентинович, Дзяк
Людмила Антонівна, Дроздов Олексій Леонідович,
Нудьга Петро Олександрович(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКЕ ЗАКРИТЕ
АКЦІОНЕРНЕ ТОВАРИСТВО НАУКОВО-
МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР "КЛІНІКА СІМЕЙНОЇ МЕДИ-
ЦИНИ"(57) Спосіб обґрунтування лікувальної тактики при
терапії бронхіальних обструкцій, що включає про-
ведення інгаляції 0,005-0,01% розчином кло-

2

феліну, як провокатором бронхіальної обструкції, та визначення при спровокованій обструкції бронхіальної астми чи хронічного бронхіту за її відсутністю, який відрізняється тим, що додатково здійснюють морфологічне дослідження біоптатів слизоватої оболонки шлунка і дванадцятипалої кишки, виявляють ступінь їх обсіменіння *Helicobacter pilori* та, якщо вона становить вище нормативного значення, підтверджують наявність бронхіальної астми і висувають протипоказання до вживання кортикостероїдів, а якщо вона становить менше нормативного значення, встановлюють бронхіальну астму чи хронічний бронхіт, у відповідності з результатом провокування обструкції, з можливістю терапії кортикостероїдами.

Корисна модель відноситься до медицини, наприклад, до засобів діагностики, що зв'язані з взяттям проб клітин до аналізу, і може бути використаною в пульмонології, фтизіатрії тощо.

З рівня техніки встановлено, що інгаляції кортикостероїдами, як базисними препаратами проти-запальної терапії, у хворих на бронхіальну астму 2-4 ступенів сприяють зниженню ймовірності розвитку необоротних і прогресуючих змін дихальних шляхів [1], але лікування ними часто підвищує гемокоагулюючу і знижує протизгортаючу активність слизової оболонки шлунка й дванадцятипалої кишки, що приводить до розвитку прогресуючих виразок, а від того вимагає високої обачливості при лікуванні різноманітних супутніх патологій [2].

Відомий спосіб діагностики бронхіальної обструкції, що включає повторну спірографію після велоергометрії та виявлення початкових ознак бронхіальної обструкції на підставі порівняльного аналізу показників пікових об'ємних швидкостей видиху [3]. Але відоме технічне рішення є не досить інформативним, оскільки призначене лише для визначення ранніх проявів будь-яких бронхіальних патологій, а від того вимагає прове-

дення додаткових досліджень для призначення адекватної терапії.

Найбільш близьким по кількості істотних ознак до об'єкта що заявляється є спосіб обґрунтування лікувальної тактики при терапії бронхіальних обструкцій, що включає проведення інгаляції 0,005-0,01 % розчином клофеліну, як провокатором бронхіальної обструкції, та визначення при спровокованій обструкції бронхіальної астми чи хронічного бронхіту за її відсутністю [4]. Позитивна відзнака прототипу полягає в деякому поширенні інформативності й точності діагнозу за рахунок використання провокаційного агенту.

Проте, використання відомого технічного рішення у наданому вигляді, з урахуванням вищенаведених тверджень, залишається проблематичним у призначенні адекватної терапії, насамперед, з-поза замалої вірогідності результатів ідентифікації вихідних станів, наприклад при інтактності до провокування обструкції, особливо, при існуванні багаточисельних форм власного сполучення бронхіальної астми з хронічним бронхітом і рештою бронхо-легеневих патологій, та відсутності оціночного критерію щодо можливості використання кортикостероїдів.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити такий спосіб обґрунтування лікувальної тактики при терапії бронхіальних обструкцій, який шляхом обстеження мікрофлори слизових оболонок шлунку та дванадцятипалої кишки підвищує вірогідність діагностування та забезпечує інтерпретування можливості використання кортикостероїдів у базовій терапії.

Вищезазначений технічний результат досягається тим, що при здійсненні відомого способу обґрунтування лікувальної тактики при терапії бронхіальних обструкцій, що включає проведення інґаляції 0,005-0,01% розчином клофеліну, як провокатором бронхіальної обструкції, та визначення при спровокованій обструкції бронхіальної астми чи хронічного бронхіту за її відсутністю, відповідності з пропозицією, додатково здійснюють морфологічне дослідження біоптатів слизуватої оболонки шлунку і дванадцятипалої кишки, виявляють ступінь їх обсіменіння *Helicobacter pilori* та, якщо вона становить вище нормативного значення, підтверджують наявність бронхіальної астми і висувають протипоказання до вживання кортикостероїдів, а якщо вона сягає менше нормативного значення, встановлюють бронхіальну астму чи хронічний бронхіт, у відповідності з результатом провокування обструкції, з можливістю терапії кортикостероїдами.

Пропоноване рішення задачі ґрунтується на використанні морфологічної закономірності щодо перевищення мікрофлорою *Helicobacter pilori* нормативного рівня обсіменіння слизової оболонки шлунку та дванадцятипалої кишки у хворих на бронхіальну астму, більше ніж у 97,6% випадків. Разом із цим, однаково часте підвищення рівня обсіменіння слизової оболонки шлунку та дванадцятипалої кишки зі зниженням протизгортаючої активності встановлене й серед хворих, приймаючих пероральні кортикостероїди у базисній протизапальній терапії бронхіальної астми. Тому використання рівня *Helicobacter pilori*, як маркера бронхіальної астми, є більш інформативним і дозволяє поширити уявлення про патогенез бронхіальної астми чи її сполучення з будь-якими формами бронхо-легеневих захворювань і додає діагностуванню підвищену вірогідність й значущість, інтерпретацію можливості застосування кортикостероїдів у базовій терапії. При цьому, використання концентрації *Helicobacter pilori*, як маркера бронхіальної астми, у сукупності з бронхопровокуючим тестом є необхідним, під час діагностування бронхо-легеневої обструкції, бо виключає помилку на ранньому етапі розвитку патології, коли значення маркера бронхіальної астми ще може бути не досить показовим, а також сприяє встановленню фази її розвитку.

Отже, кожна з вищенаведених ознак пропонованого рішення задачі в окремоті є необхідною, бо вилучення будь-якої з вище зумовленої сукупності стримує досягнення очікуваного технічного результату, а їх сукупність є суттєвою, бо має причинно-слідчий зв'язок з технічним результатом. Окрім цього, наведені твердження інформують про те, що відмітні ознаки способу явним чином не впливають з рівня техніки, що був встановлений

заявником, а від того відповідність умові корисної моделі «новизна».

Відомості, що підтверджують можливість відтворення способу обґрунтування лікувальної тактики при терапії бронхіальних обструкцій з досягненням очікуваного технічного результату полягають в наступному.

Діагностику за прототипом приймають як базову. Проводять провокацію бронхіальної обструкції 0,005-0,01% розчином клофеліну у вигляді інґаляції та визначають бронхіальну астму чи хронічний бронхіт, за позитивним або негативним результатом провокування обструкції, відповідно [4]. Надалі виявлену патологію перевіряють з метою виключення впливу сполучених форм бронхіальної астми, помилкової провокації та отримання морфологічної картини щодо призначення кортикостероїдів. Для цього відбирають біоптати слизуватої оболонки шлунку й дванадцятипалої кишки та визначають ступінь їх обсіменіння мікрофлорою *Helicobacter pilori* відповідно до норми. При цьому підтверджують наявність бронхіальної астми і висувають протипоказання до вживання кортикостероїдів, якщо ступінь обсіменіння останніх мікрофлорою *Helicobacter pilori* перевищує норму. При допустимому значенні маркера бронхіальної астми *Helicobacter pilori* перевагу віддають діагнозу за результатом провокування обструкції, бронхіальній астмі чи хронічному бронхіту, з визначенням можливості використання кортикостероїдів.

Приклад 1.

Хворому Д., з ознаками бронхо-легеневої патології, провели бронхо-провокаційне тестування інґаляцією 0,01% розчину клофеліну. За позитивним результатом провокування обструкції встановили наявність бронхіальної астми. Дослідження біоптатів слизуватих оболонок шлунку й дванадцятипалої кишки показали, що рівень їх обсіменіння мікрофлорою *Helicobacter pilori* перевищує норму більше ніж на 11,4 %. Раніш поставлений діагноз на бронхіальну астму був підтверджений, але з висуванням протипоказань до вживання кортикостероїдів.

Приклад 2.

Хворій П., з ознаками бронхо-легеневої патології, провели бронхо-провокаційне тестування інґаляцією 0,01% розчину клофеліну. За позитивним результатом провокування обструкції встановили наявність бронхіальної астми. Дослідження біоптатів слизуватих оболонок шлунку й дванадцятипалої кишки показали, що рівень їх обсіменіння мікрофлорою *Helicobacter pilori* менше норми на 1,6%. За основу взяті дані провокування обструкції. Діагностували ранню фазу бронхіальної астми, з можливістю вживання кортикостероїдів у базовій терапії.

Приклад 3.

Хворому Т., з ознаками бронхо-легеневої патології, провели бронхо-провокаційне тестування інґаляцією 0,01% розчину клофеліну. За негативним результатом провокування обструкції встановили ознаки хронічного бронхіту. Дослідження біоптатів слизуватих оболонок шлунку й дванадцятипалої кишки показали, що рівень їх обсіменіння мікрофлорою *Helicobacter pilori* пере-

вищував нормативний на 3.8%. Діагностували бронхіальну астму, з висуванням протипоказань до вживання кортикостероїдів.

Приклад 4.

Хворій В., з ознаками бронхо-легеневої патології, провели бронхо-провокаційне тестування інгаляцією 0,01% розчину клофеліну. За негативним результатом провокування обструкції встановили ознаки хронічного бронхіту. Дослідження біоптатів слизоватих оболонок шлунку й дванадцятипалої кишки показали, що рівень їх обсіменіння мікрофлорою *Helicobacter pilori* дорівнював нормі. Діагностували хронічний бронхіт, з рекомендацією лікування засобами базової терапії.

Як інформують приклади клінічного використання способу обґрунтування лікувальної тактики при терапії бронхіальних обструкцій, використання значень концентрації *Helicobacter pilori*, як маркера бронхіальної астми, в оболонках шлунку та дванадцятипалої кишки підвищує вірогідність результатів діагностування чи ідентифікації вихідних станів при інтактності до провокування обструкції та сполучення бронхіальної астми з різними формами бронхо-легеневих патологій. Інтерпретація можливостей використання кортикостероїдів у базовій терапії, у залежності від ступені обсіменіння слизових оболонок шлунку та дванадцятипалої кишки, запобігає ризику виникнення прогресуючих виразок і забезпечує ефективне використання їх фар-

макологічних властивостей за призначенням з високою вірогідністю.

Тож, заявлене технічне рішення при здійсненні в пульмонологічній практиці у тому вигляді, що наданий у незалежному пункті формули, забезпечує досягнення технічного результату за допомогою вищезазначених чи відомих до дати пріоритету засобів його перевершення, що відповідає умові «промислова придатність».

Джерела інформації:

1. Косарев В.В., Ладков В.С., Куклин А.С. Ингаляционные кортикостероиды в терапии бронхиальной астмы //Терапевт, арх. -2000. -№8. -Т.72. -С.59-61.

2. Табидзе З.Ш. Влияние глюкокортикоидных гормонов на гемокоагулирующую и фибринолитическую активность гастродуоденальной слизистой оболочки желудка // Терапевт, арх. -1994. -№3. -Т.66. -С.35-38.

3. Способ диагностики бронхиальной обструкции: Пат. 2127078 России. МПК Л 61 В 5/08 /Лещинский Л.А., Наумова Е.А., Димов А.С., Мультиановский Б.Л., Черенков А.А. (Россия). - №96106752/14; заявл. 03.04.96; опубл. 10.03.99. Бюл. №7.

4. Способ дифференциальной диагностики бронхиальной астмы и хронического бронхита: Пат. 1684975 России, МПК А61В5/00 / Павлищук С.А., Кокарев Ю.С., Трусов Ю.М. (Россия). - №4064197/14; заявл. 10.02.86; опубл. 10.06.96. Бюл. №16.

(11) **UA 2619 U**

(51) МПК А23С 9/127 (2006.01)

(54) **СПОСІБ ВИРОБНИЦТВА КИСЛОМОЛОЧНОГО ПРОДУКТУ АЦИДОФІТ-Р**

(24) 15.06.2004

(21) 2004031610 (22) 04.03.2004

(46) 15.06.2004, бюл. № 6

(71) ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ РЕГІОНАЛЬНИЙ
НАУКОВО-ТЕХНІЧНИЙ ЦЕНТР
СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА
СЕРТИФІКАЦІЇ" (UA)

(72) Большакова Валентина Леонтіївна (UA);
Вінніков Альберт Іванович (UA); Вяткін
Олександр Костянтинівич (UA); Дзяк Георгій
Вікторович (UA); Дроздов Олексій
Леонідович (UA); Маматов Валерій Петрович
(UA)

(73) ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ РЕГІОНАЛЬНИЙ
НАУКОВО-ТЕХНІЧНИЙ ЦЕНТР
СТАНДАРТИЗАЦІЇ, МЕТРОЛОГІЇ ТА
СЕРТИФІКАЦІЇ" (UA)

(98) Патентний відділ, ДДМА, Морфокорпус;
вул.Севастопольська. 19,
м.Дніпропетровськ, 49005; (UA)

1. Спосіб виробництва
кисломолочного продукту, що включає
гомогенізацію молочної сировини під тиском
15,0±2,5 МПа і температурі 45°C,
пастеризацію при температурі 87°C,
охолодження до температури заквашування,
внесення біологічно активної закваски на

основі ацидофільних бактерій штаму
Lactobacillus acidophilus, перемішування,
сквашування при температурі 37°C протягом
4,0-5,0 годин до досягнення кислотності
згустку 70-80°Т, введення смакових
наповнювачів, охолодження та розфасовку
готового продукту в споживчу тару, який
відрізняється тим, що додатково після
гомогенізації в молочну сировину вводять
сухий концентрат радіоли рожевої, як
біологічно активну добавку, і перемішують,
при цьому мінімальний температурний
градієнт пастеризації знижують до 85°C чи
доводять його до 90-92°C з експозицією 2-3
хв. і фільтрують перед пастеризацією при
наступному співвідношенні інгредієнтів, мас.
%:

бактерії штаму *Lactobacillus acidophilus* 2,0-
5,0

сухий концентрат радіоли рожевої 5,0-
10,0

молоко пастеризоване решта.

2. Спосіб виробництва
кисломолочного продукту за п.1, який
відрізняється тим, що бактерії штаму
Lactobacillus acidophilus вводять у вигляді
суміші його слизуватих і не слизуватих рас,
узятих у співвідношенні 20:80.

Корисна модель відноситься до їжі
або харчових продуктів, переважно, до
спеціальних технологічних процесів
молочної промисловості та обробки молока,
з використанням мікроорганізмів
Lactobacteriaceae чи інших і може бути
використаною в медицині, дієтології, як
біологічно активний компонент харчового
раціону, та харчовій промисловості у
виробництві продуктів тонізуючої
спрямованості.

Відомий спосіб виробництва
кисломолочного продукту, що включає
гомогенізацію молочної сировини, внесення
біологічно активної закваски,
перемішування, пастеризацію, охолодження
до температури сквашування, введення
закваски, охолодження та розфасовку
готового продукту в споживчу тару.
Відповідно до відомого технічного рішення,
перед гомогенізацією молочну сировину
додатково нагрівають до температури 40-
45°C. після внесення закваски - перемішують
протягом 15±2хв., після сквашування -
проохолоджують протягом 30-60хв., а
пастеризацію, охолодження до температури!
сквашування і введення закваски
здійснюють після гомогенізації молока, при
цьому використовують ацидофільну
закваску, а як біологічно активну закваску -
харчову добавку «Олександрина».

Виробництво кисломолочного продукту
також передбачає витримку ряду
технологічних умов, наприклад, здійснення
гомогенізації молока під тиском 15±2,5Мпа,
наступної пастеризації при температурі
92±2°C, з ви гримкою протягом 2-8хв. (або
при температурі 87±2°C, з часом витримки
10-15хв.), охолодження до температури
заквашування 42±2°C, сквашування протягом
4-6 годин, охолодження згустку протягом 30-
60хв., з експозицією перемішування
протягом 15-40хв., його часткове
охолодження до температури 23±2°C перед
розливом, і остаточне охолодження до
температури 6±2°C [1].

Недоліки відомого аналога полягають
у недостатній харчовій та лікувально-
профілактичній цінностях і замалих
органолептичних властивостях. До причин,
що впливають на рівень очікуваного
технічного результату відносяться досить
пізнє внесення біологічно активної добавки,
наприклад, після гомогенізації, пастеризації і
сквашування молочної основи за допомогою
закваски. На думку заявника, пізнє внесення
активної добавки в молочну суміш стримує її
стерильність внаслідок улучення сторонньої
мікрофлори, при цьому структура харчової
добавки «Олександрина» і технологія її
внесення в згусток створюють передумови

досягнення неповної екстракції біодобавки в продукті та виробництва неоднорідної маси.

Найбільш близьким, до заявленого об'єкта, є спосіб виробництва кисломолочного продукту, що включає гомогенізацію молочної сировини під тиском $15,0 \pm 2,5$ МПа і температури 45°C , пастеризацію при температурі 87°C , охолодження до температури заквашування, внесення біологічно активної закваски на основі ацидофільних бактерій штаму *Lactobacillus acidophilus*, перемішування, сквашування при температурі 37°C протягом 4,0-5,0 годин до досягнення кислотності згустку $70-80^\circ\text{T}$, введення смакових наповнювачів, охолодження і розфасовку готового продукту в споживчу тару, при цьому, кількість ацидофільних бактерій штаму *Lactobacillus acidophilus* у суміші сягає 1,5-2,5 мас. %, а експозиція пастеризації - 17хв. чи здійснюється при температурі 93°C протягом 4хв. [2].

Збільшення технічного результату введеному технічному рішенні зумовлено, насамперед використанням ацидофільних бактерій штаму *Lactobacillus acidophilus*, як біологічно активної закваски, упорядкуванням технологічних умов процесу виготовлення продукту і можливістю внесення смакових наповнювачів. Це забезпечується тим, що використання ацидофільних бактерій, з одного боку, додає продукту антибіотичні і бактерицидні властивості, а з іншої, дозволяє виробити в організмі природні антибіотики, націлені, наприклад, на пригнічення активності ряду збудників розповсюджених захворювань, фолієвої кислоти, збагачує біотином, вітамінами. Разом з тим, ацидофільна паличка бере участь у стимуляції імунної системи, регулює обмінні функції, нормалізує діяльність мікрофлори. Використовувана послідовність технологічних прийомів, поліпшення режимів останніх виключають контамінацію суміші патогенною мікрофлорою, яка зростає при температурі $38-40^\circ\text{C}$, та виробництва її неоднорідної структури.

Проте, харчова, біологічна, лікувально-профілактична та тонізуючі цінності готового продукту, з-поміж відсутності відповідних активних добавок, залишаються низькими, а у застосуванні штамів *Lactobacillus acidophilus* очевидна відсутність конкретики.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити такий спосіб виробництва кисломолочного продукту, який шляхом використання біологічно активної харчової добавки та оптимізації режиму кисломолочного сквашування забезпечує покращення харчових, біологічних, лікувально-профілактичних та тонізуючих властивостей при використанні.

Вищезазначений технічний результат при здійсненні корисної моделі досягається тим, що у відомому способі виробництва

кисломолочного продукту, що включає гомогенізацію молочної сировини під тиском $15,0 \pm 2,5$ МПа і температурі 45°C , пастеризацію при температурі 87°C , охолодження до температури заквашування, внесення біологічно активної закваски на основі ацидофільних бактерій штаму *Lactobacillus acidophilus*, перемішування, сквашування при температурі 37°C протягом 4,0-5,0 годин до досягнення кислотності згустку $70-80^\circ\text{T}$, введення смакових наповнювачів, охолодження а розфасовку готового продукту в споживчу тару. згідно до пропозиції, додатково після гомогенізації в молочну сировину вводять сухий концентрат радіоли рожевої, як біологічно активну добавку, і перемішують, при цьому мінімальний температурний градієнт пастеризації знижують до 85°C чи доводять його до $90-92^\circ\text{C}$; експозицією 2-3хв. і фільтрують перед пастеризацією, при наступному співвідношенні інгредієнтів, мас. %:

бактерії штаму *Lactobacillus acidophilus* 2,0-5,0

сухий концентрат радіоли рожевої 5,0-10,0
молоко пастеризоване решта,
за умови, що *Lactobacillus acidophilus* вводять у вигляді суміші його слизуватих і не слизуватих рас, узятих у співвідношенні 20:80.

Суттєві відмінності пропонованого способу від прототипу полягають у застосуванні біологічно активної добавки у вигляді сухого концентрату радіоли рожевої, що дозволяє використовувати продукт, як тонізуючий чи лікувально-профілактичний, та оптимізувати режим Гюго кисломолочного сквашування при виробництві. Для виробництва закваски та сквашування суміші використані культури штамів *Lactobacillus acidophilus*, а для забезпечення в'язання та помірно слизуватої консистенції - співвідношення його не слизуватих і слизуватих рас.

Підвищення харчової і біологічної цінності продукту забезпечується введенням сухого концентрату радіоли рожевої, що утримує органічні кислоти (щавлеву, яблучну, бурштинову, до 22-25%), глюкозу (5,2%), фруктозу (4,6%), сахарозу (5,8%), стероїди, алкалоїди, глікозит радіолозиду (20%), флавоноїди (18%), дубильні речовини, лактони, ефірні олії, аскорбінову та нікотинову кислоти. Разом з цим, сухий екстракт радіоли рожевої містить понад 20 корисних мікроелементів, наприклад, фосфор, срібло, мідь, цинк, залізо, марганець, хром, магній, сурма, вісмут тощо.

За наявності фармакологічної цінності радіола рожева реалізує лікувально-профілактичні й тонізуючі властивості і пості. Внаслідок високої адаптогенності радіола рожева стимулює регуляцію захисних сил організму, її антиоксидантні властивості попереджає дію вільних радикалів, а імунomodulatory здібності покращують імунітет організму.

Застосування радіоли рожевої, як біологічно активної добавки, найбільш оптимальне з у кількості 5,0-10,0мас. %. Зниження кількості її сухого концентрату від пропонованого мінімуму недоцільне, бо за межею 5,0мас. % харчові, біологічні, лікувально-профілактичні та тонізуючі властивості отриманого продукту знижуються. Використання сухого концентрату радіоли рожевої у кількості понад 10мас. % суміші також недоцільне, переважно з-поза можливостей впливу на її сквашування та зв'язку з порушенням балансу ацидофільних паличок.

Застосовування в заквасці слизуватих і не слизуватих штамів *Lactobacillus acidophilus*, окрім поліпшення органолептичних показників та усунення контамінації продукту патогенною мікрофлорою, має зв'язок з реалізацією властивостей радіоли рожевої, збереженням харчових, біологічних, лікувально-профілактичних та тонізуючих властивостей виробленого кисломолочного продукту. Використання суміші слизуватих і не слизуватих рас *Lactobacillus acidophilus* найбільш доцільне у співвідношенні 20:80, оскільки зв'язане з оптимізацією біологічної маси лактобактерій та наробітком продуктів метаболізму ацидофільних бактерій. Ведення *Lactobacillus acidophilus* у кількості меншій, ніж 2,0мас %, є недоцільним, оскільки викликає прояви контамінації суміші патогенною мікрофлорою, а від того впливає на корисні властивості виробленого продукту. Ведення суміші рас штаму *Lactobacillus acidophilus* у кількості більшій, ніж 5,0мас %, також недоцільне, бо при культивуванні агентів викликає дисбаланс продуктів метаболізму ацидофільних бактерій та погіршує заявлену цінності ацидофільного продукту. Окрім того, співвідношення слизуватих і не слизуватих рас *Lactobacillus acidophilus* у кількості 20:80 при виробництві продукту забезпечує оптимальну в'язкість консистенції, як похідну органолептичних показників кінцевого продукту.

Використання сухого концентрату радіоли рожевої та слизуватих і не слизуватих штамів *Lactobacillus acidophilus* в суміші найбільш доцільне після перемішування та зниження мінімального температурного градієнту пастеризації до 85°C (або доведення до 90-92°C при набагато меншій експозиції у 2-3 хв.). Це покращує режиму кисломолочного сквашування, знижує контамінацію суміші патогенною мікрофлорою, збільшує кількісні живих кліток бактерій ацидофільних паличок та оптимізує витяг корисних речовин і елементів з радіоли рожевої, а кінцева фільтрація покращує органолептичні показники отриманого кисломолочного продукту, як похідні його харчової цінності.

За цих умов біологічна цінність продукту забезпечується збільшенням кількості бактерій ацидофільних Н(І нічок, які

володіють бактерицидними та антибіотичними можливостями стосовно ряду умовно-патогенних, патогенних мікроорганізмів, у т.ч. й гнильних, тифозних, дизентерійних, туберкульозних і оптимізується рівень кислотності, що забезпечує можливість широкого застосування продукту в лікувально-профілактичному харчуванні.

Пропоноване технічне рішення у наданому вигляді дозволяє кваліфікувати отримуваний кисломолочний продукт натуральним синбіотиком, що компенсує функції антибіотичних і хімічних препаратів у регулюванні обмінних процесів організму.

На підставі наданих доводів можливо дійти висновку, що сукупність відокремлювальних ознак способу покращує харчові, біологічні, лікувально-профілактичні та тонізуючі властивості при його використанні. Втім, кожна з вищезазначених ознак в окремоті є необхідною, бо вилучення будь-якої з них із запропонованої сукупності стримує досягнення очікуваного технічного результату, а їх сукупність є суттєвою, бо має з ним причинно-слідчий зв'язок.

Відомості, які підтверджують можливість здійснення способу з досягненням заявленого технічного результату полягають в наступному.

При відтворенні способу виробництва кисломолочного продукту здійснюють гомогенізацію молочної сировини і під тиском 15,0±2,5мПа і температурі 45°C і вносять сухий концентрат радіоли рожевої, як біологічно активну добавку, у загальній кількості 5,0-10,0мас. %. Після перемішування суміш фільтрують і піддають пастеризації, при температурі 85-87°C з витримкою 5-10 хвилин (чи 90-92°C при експозиції 2-3 хвилин). Після охолодження до температури 37°C вносять бактерії штаму *Lactobacillus acidophilus* як біологічно активну закваску, у вигляді суміші його слизуватих і не слизуватих рас, при відповідному співвідношенні 20:80, у загальній кількості до 2,0-5,0мас. %. Після перемішування компоненти суміші сквашують при температурі 37°C протягом 4,0-5,0 годин до досягнення кислотності згустку 70-80°Т і додають смакові наповнювачі. На завершення продукт охолоджують та фасують у споживчу тару.

Приклад. У молочну сировину, гомогенізовану під тиском 16мПа і температурі 45°C, вносили сухий екстракт радіоли рожевої, у кількості 8мас. %. Суміш перемішували, як смаковий наповнювач додавали цукор, у кількості 3,5мас. %, і пастеризували при температурі 85°C; витримкою 5 хвилин та фільтрували. В охолоджену до температури 37°C масу додавали суміш слизуватих і не слизуватих рас штаму *Lactobacillus acidophilus*, як закваску, при їх відповідному співвідношенні 20:80, у загальній кількості до 3,0мас. %. Сквашували при температурі 37°C протягом

5 годин. Сквашування закінчували по досягненню кислотності 80°Т і утворенню досить щільного згустку. Отриману суміш гомогенізували шляхом перемішування, прохолоджували до температури 6°С та фасували у споживчу тару.

Отриманий продукт мав однорідну, текучу, у міру густу консистенцію, чистий кисло-молочний смак з присмаком радіоли рожевої, білий колір з кремовим відтінком. Кількість життєздатних кліток на 1см³ готового продукту становила 1,0x10⁷КОЕ, що інформувало про високу біологічну цінність кисло-молочного продукту. Термін збереження, без зміни смакових якостей і відділення сироватки, становив, щонайменше 36 годин.

Кисло-молочний продукт, отриманий за умов запропонованого способу володіє тонізуючими, адаптогенними антиоксидантними, імуномодельючими властивостями та підвищеною біологічною активністю. Сполучення *Lactobacillus acidophilus* з радіолою рожевою у харчовому раціоні більш ефективно реалізує антибіотичні, бактерицидні, адаптогенні, антиоксидантні, імуномодельючі, тонізуючі властивості, чим виявляє корисність продукту, насамперед при фізичній чи розумовій перевтомі, вегето-судинній дистонії, неврозах, подагрі, анемії, цукровому діабеті, туберкульозі. Крім того, регулярне вживання продукту регулює обмінні процеси шлунково-кишкового тракту, зменшує атеросклеротичні зміни серцево-судинної системи, попереджає розвиток

захворювань, що можуть виникнути внаслідок гноблення антибіотиками внутрішньої мікрофлори організму.

Отже, заявлене технічне рішення можливо пропонувати до виробництва натуральних продуктів-синбіотиків. по приходять на зміну антибіотичним і хімічним препаратам у регулюванні мікро біоценозу, функціональних процесів в організмі. Використання способу в молочній промисловості допоможе зменшити дефіцит продукції, що володіє харчовою, біологічною, лікувально-профілактичною та тонізуючою цінностями, для лікувально-профілактичного харчування, за рахунок використання активності харчової добавки і оптимізації режиму кисло-молочного сквашування в процесі її виробництва.

Джерела інформації:

1. Композиція для отримання кисло-молочного продукту «Родничок»: Пат. 2125372 Росії, МПК А23С9/13 /Фесюн В.Г. Чепрасова Т.Б., Горлов І.Ф., Чернавина І.А (Росія); Волгоградський НІТІ м'ясомолочного скотівництва і переробки продукції тваринництва (Росія); АО Відкритого типу Молочний завод «Волгоградський» (Росія). -№96112886: заявл.01.07.96: опубл.27.01.99.

2. Спосіб виробництва кисло-молочного продукту: Пат.2004968 Росії, МПК А23С9/12 / Мадоян Р.А, Арахелян Р.А. (СРСР); Общество с ограниченной ответственностью «ОМІК» (СРСР). - №5051861; заявл. 10.07.92; опубл.30.12.93.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 6918 (13) U

(51) 7 A61K33/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ВИКОРИСТАННЯ ТОНКОДИСПЕРСНОЇ МОНТМОРИЛОНІТОВОЇ ГЛИНИ ЗЕЛЕНОЇ ОРДЖОНІКІДЗІВСЬКОГО РОДОВИЩА ЯК СТИМУЛЯТОРА МІКРОЦИРКУЛЯЦІЇ КРОВІ ТА ПРИГНІЧЕННЯ ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ

1

(21) u200500648

(22) 25.01.2005

(24) 16.05.2005

(46) 16.05.2005, Бюл. №5, 2005р.

(72) Милославський Фелікс Аркадійович, Постоловський Володимир Володимирович, Воронов Євген Олексійович, Дроздов Олексій Леонідович, Лебединець Олександр Леонідович

2

(73) Милославський Фелікс Аркадійович, Постоловський Володимир Володимирович, Воронов Євген Олексійович, Дроздов Олексій Леонідович, Лебединець Олександр Леонідович

(57) Використання тонкодисперсної монтморилонітової глини зеленої Орджонікідзівського родовища як стимулятора мікроциркуляції крові та пригнічення запальних процесів.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до ліків і медикаментів для терапевтичних цілей, переважно до препаратів, що містять неорганічні активні інгредієнти, та може бути використаною в протизапальній терапії і косметології.

Відомо, що найпотужніший протизапальний ефект від вживання більшості стероїдних (кортизон, преднізолон, дексаметазон) і нестероїдних (парацетамол, ібупрофен, мефенамінова кислота, вольтарен, аспірин тощо) фармакологічних препаратів реалізується за умовою парентального введення. Але їх тривале використання обумовлює розвиток побічних ускладнень імунної та травної систем, погіршує процеси обміну, кровопостачання та кровотворення [1, 2].

Використання ж деяких протизапальних препаратів локальної дії, що включають такі солі металів, як сульфати цинку, міді, нітрати срібла, гідроокисли алюмінію тощо запобігає пагубні впливи на імунну та травну системи [3], але внаслідок незбалансованого хімічного складу стримує стимуляцію системи кровопостачання та навіть звужує судини, що взагалі уповільнює репаративні процеси.

Відомий протизапальний лікарський засіб, що включає $MgCl_2$, $CaSO_4$, KCl , Fe , як неорганічні активні макро- та мікроелементи мінеральних солей протизапальної дії, та водорозчинні сполуки Cu , Mn , Cd , Al , Zn характеризується збалансованим складом інгредієнтів, які зумовлюють стабільність протизапального ефекту та стимуляцію кровопостачання в зоні запалення. За цих умов іони залучених металів обумовлюють достатню в'язучу біологічну дію, а катіони останніх стимулюють утворення альбумінатів в запалених тканинах.

Вплив Cu , Mn , і Zn призводить до утворення менш щільних альбумінатів, а від того, знижує резистентність тканин і забезпечує їх більшу проникливість при глибокій локалізації запалень [4]. Але під час його клінічного використання оптимальні результати терапії досягаються не досить часто, внаслідок токсичності випару рідини, як лікарської форми препарату, та подразнення шкіри. Водночас, вплив препаратом у такій лікарській формі, як форетичним або тепловим агентом (у фізіотерапевтичних процедурах) суттєво ускладнює реалізацію його протизапальних властивостей, внаслідок часткового використання цінностей фармакологічної основи, і умови здійснення терапії, що відбувається лише під наглядом лікаря. При цьому складна технологія отримання даної лікарської форми інформує про високу собівартість препарату, внаслідок трудомісткості обробки сировини, здійснення хімічних реакцій, щодо виділення та синтезу інгредієнтів, фільтрації розчину тощо.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити такий стимулятор мікроциркуляції крові та пригнічення запальних процесів, який шляхом акумуляції рідини в лікарській формі підвищує фармакологічну цінність та ефективність місцевої терапевтичної дії, а за рахунок спрощення технології та використання сировини місцевого походження знижує собівартість в області переважного використання.

Вищезазначений технічний результат досягається використанням тонкодисперсної монтморилонітової глини зеленої Орджонікідзівського родовища вперше, як стимулятора мікроциркуляції крові та пригнічення запальних процесів, що відповідає критерію «новизна».

У табл. 1 наведені дані хімічного, а у табл. 2 – дані спектрального аналізу тонкодисперсної монтморилітової глини зеленої (МГЗ) Орджонікідзівського родовища.

Орджонікідзівське родовище належить до природних ресурсів Дніпропетровської області. До останнього часу МГЗ за пропонуванням призначенням не використовувалась, оскільки її утилітарні властивості були досліджені недостатньо.

Тонкодисперсна МГЗ Орджонікідзівського родовища містить глинисті мінерали: зелений монтмориліт (70-75%), жовтий каолінит (5-10%), домішки мінералів кварцу (10-15%), решта – окисли та хімічні елементи. Результати хімічного та спектрального аналізів МГЗ (табл. 1, 2) інформують про наявність в ній таких хімічних елементів, як Ba, Be, P, Cr, Pb, Sn, Ga, Ni, I, Zn, Zr, Co, Ti, Cu, Ge, Mo, Li, Mn, Nb, Sc, Ag, окислів SiO_2 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 , FeO , TiO_2 , P_2O_5 , MnO , CaO , MgO , K_2O , Na_2O і утворення $\text{Al}_2(\text{OH})_4$. Приналежність цієї глини до монтморилітової групи ідентифікується за співвідношенням $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3 \approx 4$. Підвищений вміст гідроксиди та Mg остаточно підтверджує присутність монтмориліту та хлориту, що дозволяє відрізнити пропонований глинистий мінерал від інших осадових порід. За показником $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Na}_2\text{O} \approx 6$ можливо дійти висновку й про те, що монтморилітова глиниста порода утворилася при інтенсивному лужному вивітрюванні в континентальних умовах, а від того, кваліфікувати її як досить зрілий та благоприємний мінерал серед аналогічних осадових порід. Чергування двох шарів кремнієкисневих SiO_2 тетраедрів і алюмогідроксильних $\text{Al}_2(\text{OH})_4$ октаедрів у вигляді багатшарових пакетів забезпечує формування шаруватої структури кристалічної решітки. У такому групуванні кремнієкисневі тетраедри сприяють формуванню гексагональної сітки, що нескінченно повторюється у площині, а друга структурна одиниця сполучення складається з двох шарів щільно упакованих атомів кисню чи гідроксидів, де атоми Al, Fe, Mg і решток активних макро- та мікроелементів і водорозчинних сполук розміщені в октаедричній координації, а катіони K та Na – у гексагональних і тригональних призмах. За цих умов сполучення тетраедричних і октаедричних сіток зумовлює формування такої структури, яка акумулює молекули обмінних катіонів з рідиною та пригальмовує її звичайне випаровування. У такому структурному просторі досягається безперешкодна акумуляція великих катіонів Ca, K, Mg, Mn, Zn тощо з іонною формою зв'язку. Водночас, компенсується негативний заряд, що виникає при переміщенні в тетраедрах Si^{4+} і Al^{3+} , у міжшарових проміжках розташовуються катіони обмінного комплексу, при цьому молекули рідини зв'язуються з пакетами набагато слабкіше, а гібсито- і бруситоподібні шари хлориту МГЗ виконують еквівалентні дії міжшарових катіонів і молекул води.

Тривалі дослідження показали, що структурні особливості МГЗ дозволяють відрізнити її від інших осадових порід за більш високими показниками дисперсності, гідрофільності, сорбційності та іонітності, а можливості поліморфного перетворення (повної перебудови механічної структури, зі зміною координації катіонів), політіпії (зміни поло-

ження шарів пакетів, як структурних елементів) та упорядкування (зміни розподілу катіонів, форми каркасу) зумовлюють прояви адсорбційних, поглинальних, енергетичних, а також акумуляційних властивостей для їх використання в терапії запальних процесів. Разом із цим, можливості поліморфного перетворення, політіпії та упорядкування структур МГЗ сприяють зміні лікарської форми, а саме, організації форми аплікаційного коржа, з можливістю акумуляції у його структурному просторі молекул рідини та обмінних катіонів, передусім, великих катіонів мікроелементів з іонною формою зв'язку, та компенсації впливу з боку негативних зарядів, що виникають при переміщенні катіонів обмінного комплексу в тетраедрах і міжшарових проміжках вищезазначених пакетів. Тому забезпечується блокування звичайного випаровування рідини, збільшуються фармакологічна цінність від повного використання складових агентів МГЗ, тривалість і локальна спрямованість впливу, а разом із цим покращується ефективність терапії. Результати хімічного та спектрального аналізів (табл.1, 2) дозволяють припустити, що фармакологічна цінність МГЗ ґрунтується на використанні біологічних властивостей Mg, K, Ca, Al, Mn, Ag, Mo, Cu, Ba, Cr, Co, Li, Na, Zn, а також на відсутності в ній шкідливих речовин і домішок. Спрощення технології виробництва препарату у сфері його переважного використання зумовлене відсутністю штучної селекції, підготовчої обробки та здійснення хімічних реакцій, щодо виділення та синтезу складових інгредієнтів у серійному виробництві. При впливі МГЗ відзначається віддача фізичної енергії, накопиченої в період її могутнього поглинання в геологічних корах вивітрювання. Існує думка й про те, що МГЗ володіє запасом сонячної енергії, внаслідок перетворення польових шпатів у глини під впливом енергетичних витрат, що зумовило збільшення відстані між іонами Al^{3+} , які знаходяться в центрі кисневих тетраедрів, та O^{2-} у структурній решітці (з 0,15 до 0,35нм).

Проведення морфологічних досліджень дозволило підтвердити стимуляційні властивості МГЗ, щодо пригнічення запальних процесів і нормалізації мікро-циркуляції крові у лабораторних тварин.

Після моделювання патологічного стану в шкірі лабораторних щурів, лапки останніх фіксували у 10% розчині формаліну протягом двох тижнів, а надалі висікали зразки ураженої шкіри, з області ін'єкції флогоненного розчину, які проводили крізь батарею спиртів зростаючої концентрації. Відібрані зразки заливали парафіном, які у подальшому піддавали серії зрізів, кожний з яких фарбували гематоксиліном за загальноприйнятою методикою. На 7 добу після субплантарного введення 2% формаліну в області ін'єкції реєстрували появу макроскопічних набряків і гіперемії. На мікроскопічному рівні спостерігали наявність міжклітинних набряків, різко виражену гіперемію, стазу та гіперплазію епітелію. Кровоносні судини були розширені і заповнені форменими елементами. Результати спостережень також дозволили встановити порушення судинної проникності та початок розвитку інтерстиціальних набряків. Навколо судин спостерігався розвиток інфільтрації тканин лейкоцитами.

На 14 добу виявили ознаки ексудативного запалення. Вплив аплікаційми МГЗ на ланки запалень викликав суттєві зміни, а саме, зниження інтенсивності вакуольної дистрофії, гіперплазії, ступені інтерстиціальних набряків, а навколо судин - лімфоцитарної інфільтрації. Блокування процесу інфільтрації тканин було досягнуто під впливом МГЗ. Тож, використання МГЗ, за рахунок реалізації біологічних властивостей Mg, K, Na, Ag, Ca, Zn, Mn, Ba Mo тощо, стимулює пригнічення механізмів розвитку ексудативної фази запалення і нормалізацію мікроциркуляції крові в області сформованих інфільтратів.

Додаткові переваги пропонованого технічного рішення також полягають у збільшенні тривалості впливу, активності іонного обміну, стабілізації концентраційних показників інгредієнтів у лікарській формі на протязі впливу, у можливості здійснення амбулаторної терапії та розширенні зручності використання. Експлуатаційні зручності розширюються за рахунок використання МГЗ в амбулаторних та санаторно-курортних умовах, застосування різних розчинників, добавок і наповнювачів, наприклад, фізіологічного розчину, розчинних ліків і косметичних олій. МГЗ володіє унікальними можливостями адсорбування токсинів і вилучення їх з організму, завдяки розвиненим тетраедральним структурам. Мінеральна основа МГЗ, імовірно, покращує і тканинне дихання, забезпечує реалізацію гіпокоагуляційних, протимікробних, спазмолітичних та імуномодуючих властивостей.

Поставку МГЗ Орджонікідзівського родовища організують після звичайної санітарно-гігієнічної обробки на фармакологічному підприємстві, подібнювання до силучого стану та фасування по 200-300г у пакети.

Лікування запальних захворювань з використанням МГЗ доцільне під наглядом лікаря.

Для стимуляції мікроциркуляції крові та пригнічення зовнішніх запальних процесів у необхідну кількість МГЗ додають гігієнічно прийнятний розчинник, наприклад воду дистильовану, фізіологічний розчин або розчини ліків для адекватного лікування, у такому обсязі, щоб отримати пластичний аплікаційний корж. У міжшарових проміжках МГЗ розташовуються катіони обмінного комплексу Mg, K, Ca, Al, Mn, Ag, Mo, Cu, Ba, Cr, Co, Li, Na, Zn з іонною формою зв'язку, чим досягається безперешкодна акумуляція молекул рідини. Водночас, компенсується негативний заряд, що виникає при переміщенні в тетраедрах Si^{4+} і Al^{3+} , при цьому молекули рідини зв'язуються з пакетами багатоваріантних. За цих умов вологий аплікаційний корж накладають на зону ураження на протязі запропонованої експозиції. Вплив здійснюють в природних умовах, за теплотерапевтичною чи електрофоретичною методиками (в клініці чи амбулаторно).

На погляд заявника використання МГЗ може бути корисним у лікуванні артритів, радикулітів, міозитів, ангіопатії, облітеруючих захворювань нижніх кінцівок, деяких дерматологічних захворювань та в косметології.

Приклад 1. Хворий Т., отримував профілактичне амбулаторне лікування облітеруючого захворювання нижніх кінцівок в натуральних умовах

аплікаційними коржами, виготовленими на основі МГЗ Орджонікідзівського родовища, протягом 15 сеансів на місяць. Для стимуляції мікроциркуляції крові до 300г МГЗ додавався розсіл бішофіту, до отримання пластичної аплікаційної маси. У міжпакетному просторі МГЗ зосереджувались катіони обмінного комплексу глини (Mg, K, Ca, Al, Mn, Ag, Mo, Cu, Ba, Cr, Co, Li, Na, Zn) і бішофіту ($MgCl_2$, KCl, $CaSO_4$, Fe, Al, Mn, Zn, Cu, Cd) з іонними формами зв'язку. Вологий аплікаційний корж накладали на зони ураження з експозицією у 30 хвилин. Під впливом МГЗ іони корисних мінералів потрапляли на шкіру і всмоктувались до м'язів і мікросудин. Дані морфологічного дослідження біоптатів шкіри після профілактичного лікування, без подразнення виразності морфологічних змін майже у 2 рази. Завдяки представленню засобу у вигляді аплікаційного коржа та акумуляції рідини у лікарській формі посилили фармакологічну цінність препарату, а разом із цим, об'єктивну та суб'єктивну симптоматику з майже повною редукцією проявів хвороби на фоні базової хіміотерапії після 6 місячного курсу профілактичного лікування, без подразнення шкіри розсоллом. На фоні терапії відзначене зменшення ваги синдрому виразності вегетативної дистонії, судинних, геморагічних розладів, порушень ритму серця, рівня АТ. Знизилась частота і виразність загальних судинних порушень (ранкового головного болю, синкопів, переднепритомних станів, мігрені, запаморочень) та симптоми ішемії у кінцівках.

Приклад 2. Хворий Р., використовував МГЗ Орджонікідзівського родовища для лікування дистрофічних явищ в епідермісі в амбулаторному режимі під наглядом лікаря. Для стимуляції пригнічення запального процесу на фоні базової хіміотерапії, до 450г МГЗ додавався фізіологічний розчин хлористого натрію, до отримання пластичної аплікаційної маси. У міжпакетному просторі МГЗ зосереджувались катіони обмінного комплексу глини (Mg, K, Ca, Al, Mn, Ag, Mo, Cu, Ba, Cr, Co, Li, Na, Zn) і рідка фаза хлористий натрію, з іонними формами зв'язку. Вологий аплікаційний корж накладався на уражену поверхню шкіри, з експозицією 25-30 хвилин у кожному з 10 сеансів. Під впливом МГЗ іони корисних мінералів потрапляли на епітелій і всмоктувались. Покращення тканинного дихання, гіпокоагуляційний, протимікробний, спазмолітичний та імуномодуючий характер мінеральної основи МГЗ забезпечив пригнічення запального процесу на 7 добі лікування. Дослідження впливу на структуру шкіри з боку заявленого засобу виявило позитивні макро- та мікроскопічні зміни набряків і гіперемії в епідермісі. В епідермісі знизилась ступінь вакуольної дистрофії та спонгіозису, бо перинуклеарні набряки зустрічались лише в окремих клітинах і були виражені у значно меншому ступеню, щілини поміж епідермоцитами були практично відсутні, що свідчило про інтенсивне зниження дистрофічних явищ в епідермісі.

Отже, вплив пропонованим засобом забезпечує суттєві переваги в області переважного використання. У клінічній практиці МГЗ може бути корисною при лікуванні гострих і хронічних захворювань опірно-рухового апарату, передусім, артритів, радикулітів, міозитів, ангіопатичних та

облітеруючих захворювань нижніх кінцівок, деяких запально-опікових уражень шкіри. Використання осадової породи, а саме, тонкодисперсної монтморилітової глини зеленої Орджонікідзівського родовища вперше, як стимулятора мікроциркуляції

крові та пригнічення запальних процесів в медицині, допоможе посилити фармакологічну цінність препарату, покращити ефективність терапії та рентабельність його виробництва. Тож, корисна модель відповідає умові «промислова придатність».

Таблиця 1

Результати хімічного аналізу МГЗ	
окисли	вміст, %
SiO ₂	62,5
Al ₂ O ₃	12,2
Fe ₂ O ₃	4,90
CaO	3,50
MgO	3,30
K ₂ O	2,30
TiO ₂	0,37
FeO	0,21
P ₂ O ₅	0,21
Na ₂ O	0,28
MnO	0,08

Таблиця 2

Результати спектрального аналізу МГЗ	
мінерали	вміст, % 10 nd
Ti	500
Ba	70,0
Mn	70,0
P	50,0
Zr	30,0
Cr	7,00
Ni	5,00
Zn	5,00
Pb	2,00
Ag	2,00
I	2,00
Cu	5,00
Li	1,50
Co	1,50
Nb	1,00
Sc	1,00
Ga	1,00
Mo	0,30
Sn	0,20
Ge	0,15
Be	0,10

Джерела інформації:

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Медицина, 1993 (ч.1). - С.224-225.
2. Лекарственные препараты в России: Справочник. - М. «Астра Фарм Сервис», 1995. - 741с.
3. Регистр лекарственных средств России / Под ред. Ю.Ф. Крылова. - М.: Инфармахим, 1993. -

754с.

4. Протизапальний лікарській засіб: Пат. 44442 України, МПК 7 А61К33/00 / Дзяк Г.В., Дроздов О.Л., Зорін О.М., Головкін В.О., Холод Б.І., Істомін В.П. (Україна). - №2001021040; заявл. 14.02.01; опубл. 15.02.02.

Демченко Олена Михайлівна

Доктор біологічних наук працювала на кафедрі фармакології й клінічної фармакології з 1987 року в якості старшого наукового співробітника по госпдоговірній темі.

За час роботи освоїла біохімічні методи визначення Na, Ca, АТФ-Ой активності окремих утворень головного мозку. З 1989 року активно займалася дослідженнями в галузі онтогенезу, вивчала вплив анальгетиків на поведінкові реакції тварин і АТФ-азну активність окремих утворень і органів. Нею було показано, що дія різних анальгетиків: промедолу, трамалу й знеболюючий ефект клофеліну залежить як від рівня дозрівання структур головного мозку, так і від стану анти- і ноцицептивної системи. Після операційного втручання (лапаротомія) знижувалася стійкість до болючих подразників і підвищувався позитивний ефект - у ранньому віці в експериментальних тварин.

В 1993-1999 г.г. займалася науковою працею, досліджуючи властивості нових органічних сполук. Дані її наукових досліджень були викладені в докторській дисертації «Роль тиреоїдних гормонів у реалізації фізіологічних механізмів уроджених і придбаних форм поведінки в пацієнтів різного віку».

Олена Михайлівна автор 27 статей і 44 тез, 1 патенту на винахід. У цей час Олена Михайлівна – доцент кафедри фізіології ДДМА, член спеціалізованого ради по захисту дисертацій при Херсонському державному університеті.



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **12548** (13) **U**
(51) МПК
A61B 5/0484 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ГЛІАЛЬНОГО ФІБРИЛЯРНОГО КИСЛОГО БІЛКА СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЯК КРИТЕРІЮ ОЦІНКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

1

2

(21) u200507680

(22) 01.08.2005

(24) 15.02.2006

(46) 15.02.2006, Бюл. № 2, 2006 р.

(72) Демченко Олена Михайлівна, Неруш Петро
Опанасович, Дроздов Олексій Леонідович

(73) Демченко Олена Михайлівна, Неруш Петро
Опанасович, Дроздов Олексій Леонідович

(57) Застосування гліального фібрилярного кисло-
го білка структур головного мозку як критерію оці-
нки функціонального стану щитоподібної залози.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме, до визначення, виміру або реєстрації змін з діагностичною ціллю та може бути використаною в експериментальній ендокринології, педіатрії чи імунології.

Відомий спосіб діагностики аутоімунних захворювань щитовидної залози, що включає УЗ дослідження щитовидної залози, порівняльну оцінку змін ехогенностей тиреоїдної тканини та привушної слинної залози, як індивідуальної норми, при цьому, за інтенсивністю фарбування отриманих зображень здійснюють порівняльну оцінку, а по зниженню ехогенності тканин привушної слинної залози діагностують аутоімунне захворювання. Оцінка функціональних змін щитовидної залози за допомогою інструментального дослідження забезпечує визначення аутоімунного тиреоїдиту з прийнятною точністю [1].

З досліджуваного рівня техніки також відомо використання інфрачервоної термографії області щитовидної залози та верхніх кінцівок [2], електричного опору тканин щитовидної залози на низькій та високій частотах струму [3], динамічного лимфосцинтиграфічного дослідження з колоїдно-опсоніновим розчином альбуміну [4] тощо. Проте інструментальні методи досліджень [1-4] характеризуються високою собівартістю.

Відомий спосіб диференціальної діагностики вузлових поразок щитовидної залози, що ґрунтується на визначенні рівнів тиреоїдних гормонів в сироватці крові й тиреоглобуліну, дослідженні ознак лабораторного гіпотиреозу, фізичних розмірів щитовидної залози на фоні змін динаміки консервативного лікування. Застосування морфологічних критеріїв істотно зменшує собівартість діагностики, внаслідок виключення потреб до ін-

струментальної основи чи влаштування [5]. Але ефективність кінцевого результату за умов технічного рішення все ж зв'язується з отриманням уявлень динаміки консервативного лікування, що на субклінічних етапах погіршення функціонального стану щитовидної залози запобігає діагностуванню гіпер- або гіпофункції щитовидної залози, а також свідчить про недостатню інформативність вихідних даних. Водночас, отримання клінічних показників потребує залучення великих обсягів сироватки крові, що вимагає притягнення надмірної кількості тварин і додаткових матеріальних витрат для їх утримування, годівлі та фармакологічної підтримки.

Інші об'єкти аналогічного призначення при дослідженні технічного рівня оцінки функціонального стану щитовидної залози не встановлені.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити такий критерій оцінки функціонального стану щитовидної залози, який шляхом відбиття експресії глікопротеїну в структурах головного мозку сприяє підвищенню інформативності на субклінічних етапах за рахунок реєстрації змін гіпер- або гіпофункції, зумовлює зниження потреби у лабораторних тваринах та розширює межі переважного використання в експерименті.

Вищезазначений технічний результат досягається застосуванням гліального фібрилярного кислого білку структур головного мозку вперше, як критерія оцінки функціонального стану щитовидної залози, що інформує про відповідність критерію «новизна».

Гліальний фібрилярний кислий білок (ГФКБ) проміжних філаментів астроцитів є невід'ємною складовою протеїнового цитоскелету, що характеризує форму, обсяг і функціональний стан поверх-

невої мембрани клітин [6]. При нейрон-гліальних взаємодіях ГФКБ здатний змінювати власні показники в крові, фронтальних і підкоркових структурах головного мозку та інформувати про наявність патологічних порушень з прийнятною точністю [7]. Це зумовлено змінами процесів синтезу, депонування, а також елімінації ГФКБ через гемато-енцефалічний бар'єр в систему кровообігу та подальшою можливістю визначення відповідних змін його концентрації, внаслідок означених процесів.

Виникаючі гормональні зрушення щитовидної залози глибоко змінюють діяльність головного мозку та його окремих структур, що призводить до порушення вищих психічних функцій, у т.ч. й до поведінкового дефіциту та мнестичних розладів. На певних етапах онтогенезу або при досягненні критичного відхилення від норми тим чи іншим фактором гомеостазу включається міцна система ендокринної регуляції, що діє і через тиреоїдні гормони (гормони щитовидної залози). Ліпофільні властивості останніх сприяють проникненню клітинних мембран через b-шар і зв'язку з власними рецепторами в цитоплазмі чи ядрі. Водночас, знову утворений гормон-рецепторний комплекс сполучається з ДНК й ГФКБ стимулює транскрипцію певних генів, а трансляція МРНК призводить до появи нових протеїнів. Від того тиреоїдні гормони репресують деякі гени, що реалізують біологічний ефект шляхом зменшення кількості білків в клітині. Ефект від дії тиреоїдних гормонів реалізується за рахунок «вмикання–вимикання» нових генів, що сприяє отримуванию інформації про порушення функції (гіпер- або гіпофункції) щитовидної залози через зміни функціональних станів ЦНС, переважно, за рахунок реєстрації змін концентрації ГФКБ структур головного мозку, як маркера патологічних змін.

Кількісне порівняння показників експресії ГФКБ при порушенні стану щитовидної залози з нормою дозволяє здійснити реєстрацію змін гіпер- або гіпофункції на субклінічних етапах формування під час переструктуризації функціональної активності астроцитів, що відбивають трофічні функції нейронів окремих утворень головного мозку та залежність концентрації глікопротеїну, відповідального за процеси структурного синаптичного ремоделювання та аксонального зростання, від ендокринних змін. Реєстрація змін гіпер- або гіпофункції за рахунок застосування ГФКБ структур головного мозку, насамперед, під час відсутності грубих форм патологічних порушень (на субклінічних етапах) свідчить про підвищення інформативності пропонованого критерію. Апелювання цим критерієм сприяє зниженню потреб до лабораторних тварин та економічних переваг над об'єктами минулого покоління, оскільки отримання кінцевого результату обмежується використанням лише однієї лабораторної тварини.

Наведені тлумачення дозволяють дійти висновку про те, що застосування відомого показника умовної пасивно-захисної реакції, такого як ГФКБ, відповідного за процеси консолідації, збереження та відтворення енграм пам'яті з боку клітин астроцитарної глії [7], дозволяє реалізувати його інформаційні властивості за іншим призна-

ченням в області ендокринології, що розширює межі його переважливого використання.

Аналіз властивостей пропонованого критерію свідчить про наявність суттєвих переваг над об'єктами аналогічного призначення в умовах експерименту та зв'язку із заявленим технічним результатом.

Відомості, що підтверджують можливість застосування ГФКБ, як критерія оцінки функціонального стану щитовидної залози, полягають в наступному.

Для діагностики стану щитовидної залози залучали білих щурів лінії Вістар. Для реєстрації експресії ГФКБ, як біологічний аналізат відбирають проби тканин фронтальних і підкоркових структур їх головного мозку. Поряд із цим використовують гомогенізатор, буферний розчин трис-НСІ (рН7,4), сечовину, електрофоретичне пристосування з пластиною ПААГ, гель поліакриламідний, комплект препаратів для підтримки імуноблотингу, целюлозну мембрану, як твердий носій, для сканування і порівняння інтенсивності формування поліпептидних зон найбільш доцільне використання програми «LabWork 4.0» (UVP, Велика Британія).

Тканини після відокремлення від оболонок і кровоносних судин гомогенізують шляхом змішування з 50мМ трис-НСІ буфера при співвідношенні 1:6. Гомогенізатор, у вигляді розчину мозкових білків, після ресуспендування (у тому ж буфері) та центрифугування осаджують протягом заданого періоду. Надалі здійснюють додаткове ресуспендування (у тому ж буфері з доданою сечовиною), інкубування та центрифугування аналізату до отримання супернатанту, що містить водонерозчинні фракції філаментних білків. У заданому технологічному режимі за Laemmli проводять електрофорез [8]. При цьому білкові фракції супернатанту мігрують у електричному полі крізь пори поліакриламідного гелю, що сприяє формуванню певних відстаней, зворотно-пропорційних до молекулярної маси білків, та їх наступному визначенню шляхом зіставлення з відстанями білків-маркерів. Використанням «пористого поліакриламідного гелю» забезпечують концентрування досліджуваних фракцій у вузькій стартовій зоні з чітким розділом субстанцій. На закінчення електрофорезу гель промивають для вилучення надлишків та остаточно висушують.

Надалі шляхом імуноблотингу за методикою Towbin [9] досліджувані фракції ГФКБ переносять на твердий носій для імуноспецифічного визначення його концентрації. При цьому імуноблотинг забезпечує визначення концентрації глікопротеїну у пробі з можливістю проведення поліпептидного аналізу вмісту, а інтенсивність імунозабарвлення певної поліпептидної зони, що реагує з моноспецифічною антисывороткою, набуває пропорційного співвідношення до кількості антигену. Після імуноблотингу за допомогою програми «LabWork 4.0» здійснюють сканування та порівняння інтенсивності насичення ГФКБ поліпептидних зон целюлозної мембрани, як твердого носія.

При діагностуванні, по збільшенню інтенсивності насичення ГФКБ поліпептидних зон носія відносно норми встановлюють гіпотеріоз, а по

зменшенню - гіпотеріоз, з використанням лише однієї лабораторної тварини.

Тож, різниця концентрацій ГФКБ в таламусі експериментальних тварин з патологічними вадами щитовидної залози (гіпер-, гіпофункції) і контрольних набула функцію об'єктивного оцінного критерію, що характеризується підвищеною інформативністю, оперативністю (своечасністю) реєстрації дисфункційних процесів та економічністю. Інтерпретація вихідних даних дослідження допоможе доопрацювати базові та створити нові механізми високоефективної корекції патологічного стану у людини, особливо, попередити розвиток ракових пухлин, прогнозувати зміни регіонарної екологічної обстановки, розвиток деструктивних уражень мозку у новонароджених, оцінювати неблагоприємні наслідки захворювань тощо.

Джерела інформації:

1. Способ диагностики аутоиммунных заболеваний щитовидной железы: Пат. 2104531 России, МПК G01N33/48, A61B8/00 / Касаткина Э.П., Шилин Д.Е., Пыков М.И., Рюмин Г.А. (Россия); Российская медицинская академия последипломного образования и МП РФ (Россия). - №96119397/14; заявл. 25.09.96; опубл. 10.02.98.

2. Способ диагностики гиперфункции щитовидной железы: Пат. 2106109 России, МПК A61B5/00 G01K17/08 / Попов В.А., Шацова Е.Н., Романова Т.Б., Попова Н.С. (Россия); Архангельский госу-

дарственный медицинский институт (Россия). - №94018752/14; заявл. 23.05.94; опубл. 10.03.98.

3. Способ интраоперационной диагностики рака щитовидной железы: Пат. 1392651 России, МПК A61B5/05, G01N33/483 / Мыц Б.В., Тюленев В.В., Хачатрян А.П. (Россия); Новосибирский государственный медицинский институт (Россия). - №3969996/14; заявл. 26.09.85; опубл. 20.07.97.

4. Способ дифференциальной диагностики узлового зоба и опухолей щитовидной железы: Заяв. 93032432 России, МПК G01N33/58 / Пинский СБ., Сидоров А.И., Рыжков О.В. (Россия); Иркутский государственный медицинский институт (Россия). - №93032432/14; заявл. 21.06.93; опубл. 10.02.96.

5. Способ дифференциальной диагностики узловых поражений щитовидной железы: Пат. 2063635 России, МПК G01N33/48 / Мамчич В.И., Погорелов О.В. (Украина). - №93053252/14; заявл. 16.11.93; опубл. 10.07.96.

6. Fuchs E., Weber K. Intermediate filament: structure, dynamics, function and disease // Ann. Rev. Biochem. - 1994. - V.63. - P.345-382.

7. Критерій оцінки відтворення умовної пасивно-захисної реакції: Пат. 45277 України, МПК A61B 5/0484 / Дроздов О.Л., Дзяк Л.А. (Україна). - №2001107278; заявл. 25.10.01; опубл. 15.03.02.

8. U. Laemmli.

9. Towbin.

Білецька Елеонора Миколаївна

Доктор медичних наук, професор, завідувача кафедрою загальної гігієни Дніпропетровської державної медичної академії

Народилась в 1952 рік у м. Дніпропетровськ. У 1976 році з відзнакою закінчила ДДМА та розпочала науково-педагогічну діяльність в якості асистента кафедри загальної гігієни. На кафедрі виконала та у 1983 році захистила кандидатську дисертацію на тему: «Гигиеническая оценка влияния шума и аэрозоли хрома на сердечно-сосудистую систему» (Київ, НИИ гигиены труда и профзаболеваний).

У 1994 році обрана доцентом, у 2002 р. – професором, а у 2003 р. – завідувачою кафедри загальної гігієни ДДМА. У 1998 р. захистила докторську дисертацію на тему «Гігієнічна характеристика впливу важких металів навколишнього середовища на репродуктивну функцію жінок» (Ді. «Інститут гігієни та медичної екології АМН України», м. Київ).

Під її науковим керівництвом захищено 7 дисертаційних робіт (в т.ч. – 2 докторські дисертації), надруковано 5 монографій, вона є співавтором 3 підручників, 6 учбових посібників, 4 –х методичних рекомендацій МОЗ, 2-х патентів, 5 рацпропозицій, близько 300 наукових публікацій. Здійснювала наукове керівництво 3-х держбюджетних НДР «Ведення біомоніторингу важких металів в містах з високим рівнем забруднення», «Медико-гігієнічне обґрунтування та впровадження пектинових препаратів для профілактики адаптації та реабілітації дітей промислового регіону» (МОЗ України), фрагментів науково-технічних програм «Діти України», «Репродуктивне здоров'я», національної програми «Здоров'я нації».

Білецька Е.М. обіймає посаду завідувачою кафедри загальної гігієни ДДМА з 2003 р.

Нагороджена Національним комітетом Російської Федерації орденом М.І. Пирогова (2007 р.).



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **15461** (13) **U**
(51) МПК (2006)
G01N 30/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС**
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ СЕЛЕНУ У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ**

1

(21) u200507645

(22) 01.08.2005

(24) 17.07.2006

(46) 17.07.2006, Бюл. № 7, 2006 р.

(72) Білецька Елеонора Миколаївна, Дроздов Олексій Леонідович, Качанов Сергій Олександрович, Вяткін Олександр Костянтинович, Рудько Андрій Миколайович, Кошелев Олег Станіславович

(73) Білецька Елеонора Миколаївна, Дроздов Олексій Леонідович, Качанов Сергій Олександрович, Вяткін Олександр Костянтинович, Рудько Андрій Миколайович, Кошелев Олег Станіславович

(57) Спосіб визначення концентрації селену у водному розчині, який **відрізняється** тим, що включає

2

виготовлення буферної суміші на основі 2см^3 оксиду хрому, 4см^3 діетаноламіну й 2см^3 цетилтриметіламонію броміду при молярних концентраціях $0,025\text{моль/дм}^3$, $0,05\text{моль/дм}^3$ і 3мг/дм^3 , відповідно, та 2см^3 води дистильованої, розбавлення її водою дистильованою у співвідношенні 1:10, дегазацію проби водного розчину, її поляризацію осаждением буфером у співвідношенні 1:1, транспортування крізь кварцовий капіляр в умовах електроосмотичного потоку, детектування, сканування оптичної щільності на довжині хвилі аналізатора 254нм, формування електрофореграми, обчислення площі піку сигналу селену та перетворення даних у показник кількісного вмісту.

Корисна модель відноситься до досліджень або аналізу матеріалів шляхом розділення їх на складові частини та може бути використаною в медицині, переважно, в дослідженнях біохімічних, гігієнічних і контрольно-аналітичних лабораторій.

Відома методика розділення розчинів на складові частини шляхом рідинної хроматографії [1]. Але її відтворення часто викривляє кінцеві результати, внаслідок низької чутливості засобів детектування до досліджуваних фракцій, недостатніх рівнів екстракції, поляризації, експозиції останніх між періодами утримання та використання хімічних домішок.

Більш достовірні результати при розділенні розчинів на складові частини досягають капілярним електрофорезом, реалізованим, наприклад, у способі визначення вмісту рибоксину у водному розчині, що включає виготовлення буферної суміші, як електроліту, на основі розчинів $5,5\text{см}^3$ борної кислоти і $6,5\text{см}^3$ тетраборату натрію при концентраціях $0,2\text{моль/дм}^3$ і $0,05\text{моль/дм}^3$, відповідно, її осадження дистильованою водою у співвідношенні 1:10, дегазацію, поляризацію проби водного розчину осаждением буфером у співвідношенні 1:1, пропускання поляризованої проби крізь кварцовий капіляр в умовах електроосмотичного потоку, детектування, сканування оптичної щільності під час міграції катіонів рибоксипу в бік до аноду на довжині хвилі аналізатора 254нм, формування

електрофореграми, обчислення площі піку сигналу рибоксину та перетворення даних у показник кількісного вмісту [2]. За цих умов поляризація досліджуваного розчину осаждением буфером призводить до активації іонів аналізату, зв'язків катіонів з потенціалами електроліту, що сприяє міграції останніх до зони детектування та можливості остаточної ідентифікації. При цьому склад буферного розчину та концентрація інгредієнтів впливають на енергетичні властивості аналізату, а від того, посилюють рівень екстракції, експозиції та покращують чутливість до субстанції в зоні детектування без використання зайвих хімічних домішок Спосіб розрахований на реєстрацію системних піків катіонів досліджуваних хімічних компонентів під час міграції в бік до аноду.

Рівень техніки, що досліджений винахідниками-заявниками, інформує про відсутність об'єктів аналогічного призначення, зв'язаних саме з визначенням масових концентрацій селену у водних розчинах [2-4]. Разом із цим, розширення меж застосування вищезазначених методик при реалізації нового призначення стримується форетично-регенеративними властивостями електролітичної суміші, що зумовлює міграцію катіонів до аноду, не прийнятною полярністю джерела живлення та специфічністю селену.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити такий спосіб визначення концентрації

селену у водному розчині, який шляхом доопрацювання форетично-регенеративної фази та зміни напрямку електроосмотичного потоку забезпечує отримання достовірного кінцевого результату за рахунок підвищення чутливості до впізнання селену та розширює межі застосування капілярного електрофорезу при використанні.

Вищезазначений технічний результат досягається тим, що запропонований спосіб визначення концентрації селену у водному розчині, відповідно до корисної моделі, містить виготовлення буферної суміші на основі 2см^3 оксиду хрому, 4см^3 діетаноламіну й 2см^3 цетилтриметіламонію броміду при молярних концентраціях $0,025\text{мол/дм}^3$, $0,05\text{мол/дм}^3$ і 3мг/дм^3 , відповідно, та 2см^3 води дистильованої, розбавлення її водою дистильованою у співвідношенні 1:10, дегазацію проби водною розчином, її поляризацію осаждением буфером у співвідношенні 1:1, транспортування крізь кварцовий капіляр в умовах електроосмотичного потоку, детектування, сканування оптичної щільності на довжину хвилі аналізатора 254нм, формування електрофореграми, обчислення площі піку сигналу селену та перетворення даних у показник кількісного вмісту.

Виготовлення буферної суміші на основі розчинів 2см^3 оксиду хрому, 4см^3 діетаноламіну й 2см^3 цетилтриметіламонію броміду при молярних концентраціях $0,025\text{мол/дм}^3$, $0,05\text{мол/дм}^3$ і 3мг/дм^3 , відповідно, та 2см^3 води дистильованої зумовлює енергетичну активацію аніонів селену, їх відокремлювання від катіонів решти присутніх фракцій та остаточну ідентифікацію на фоні «шуму» останніх з оптимальною чутливістю. Оскільки специфічність селену, вимагає зміни напрямку міграції аніонів, переважно в бік до катоду, та модифікації поверхні кварцового капіляру, з можливістю зміни полярності подвійного електричного шару на зворотну, то включення ЦТАБ до вмісту буфера, як катіонної поверхнево-активної речовини, активує процес сорбування його катіонів на кварцовій поверхні та зумовлює захват вакансій найближчого поверхневого шару. Внаслідок утворення довгих цетильних ($\text{C}_{16}\text{H}_{23}$ -) ланцюжків, це додає кварцовій поверхні гідрофобну властивість та зумовлює сорбування додаткового шару поверхнево-активного катіону, зорієнтованого амонійним кінцем назовні. Від того, перший шар з подвійного електричного утворення стає позитивним, другий, разом із власною дифузійною частиною - негативним, а аніони селену набувають можливість мігрувати від вхідного кінця кварцового капіляру до катоду (в зону детектування) першими у вигляді окремої зони, що реєструється на електрофореграмі у вигляді системного сигналу виходу аніонів, залишаючи позаду аніони решти присутніх домішок. Разом із цим, діетанолалін являє катіон основи буферної суміші із заниженою рухомістю, що стримує електропровідність розчину, а його використання сприяє звороту напрямку електроосмотичного потоку до катоду, оскільки потенціал останнього може уповільнити або стримати електроміграцію аніонів в зону детектування. Введення оксиду хрому передбачає отримання аніонної основи з сильною смугою пропущення в області 254 нм для непрямого визначення концентрації

аніонів селену, внаслідок його слабкої смуги поглинання у цій області. За таких умов надлишок діетанолаліну створює слабе лужне середовище ($\text{pH}=9$), аніон CrO_4^{2-} забезпечує необхідне світлопоглинання, а катіон ЦТАБ, сорбуючись на поверхні кварцового капіляру, перезаряджає поверхню на позитивну, чим досягається зміна напрямку електроосмотичного потоку.

Значність складу буфера пов'язується з ефективністю поляризації вмісту проби, чутливістю засобів ідентифікації до селену, регуляцією зв'язків із зарядженими міцелами ЦТАБ. Тому кількісні показники обсягів і молярних концентрацій інгредієнтів буферної основи є оптимальними, оскільки відхилення від запропонованих значень, разом із погіршенням чутливості до селену в зоні детектування, практично впливає на погіршення достовірності й точності значень кінцевого результату. Як і будь яка поверхнево-активна речовина, ЦТАБ при малих концентраціях утворює натуральні розчини, а при більш високих колоїдні. При молярній концентрації ЦТАБ 3мг/см^3 , міцели, як елементи колоїдної фази, генерують достатню кількість катіонів, звернених азотним кінцем назовні, з можливістю їх поглинання еквівалентною кількістю аніонів селену. Зниження ЦТАБ в електролітичному середовищі є критичним до активності міцел, а підвищення призводить до виснаження електролітичного носія при використанні. Осадження буфера дистильованою водою у співвідношенні 1:10 перед поляризацією зменшує вплив зайвих хімічних елементів у носії, забезпечує оптимальну чутливість до селену. Змішування проби водного розчину з буфером у співвідношенні 1:1 активує аніони селену, їх форетичну рухомість, зумовлює зменшення впливу «шумів» на електрофореграму. Поляризація забезпечує нативність, посилює зв'язки нейтральних атомів селену із зарядженими частками буфера. Від того досліджувані фракції можуть переміщуватися в електричному полі та бути впізнаними засобом детектування.

Реєстрація оптичної щільності на довжині оптичної хвилі 254нм дозволяє сприйняти аніони селену та сформувати електрофореграму сигналу під час міграції в отворі кварцового капіляру, а спостереження за піковим сигналом, обчислювання його площі - перетворити отримані дані у показник кількісного вмісту селену у водному розчині. Втім регенеративні властивості буферної суміші відповідають специфічності селену, тобто забезпечують міграцію аніонів до зони детектування без залучення зайвих хімічних домішок.

Тож, наведені твердження інформують про те, що запропоноване технічне рішення у наданому вигляді відповідає умові корисної моделі «новизна», оскільки явним чином не впливає з рівня техніки визначення масових концентрацій селену, а сукупність його ознак набуває суттєвості, оскільки має причинно-наслідковий зв'язок з отриманням заявленого технічного результату.

Відомості, що підтверджують можливість відтворення способу визначення вмісту селену у водному розчині з отриманням вищезазначеного технічного результату полягають у наступному.

Сутність запропонованого технічного рішення ілюструється звітним документом програми «Му-

льтіхром».

Для визначення вмісту селену у водному розчині доцільно застосування промислової системи капілярного електрофорезу «Капель-103РТ» (НПФ «Люмекс» Російської Федерації), кварцового капіляру ($\varnothing 0,075$ мм, завдовжки 600 мм), терезів лабораторних 2 класу, мір маси, дозаторів піпеточних змінних обсягів, рН метру, центрифуги (2000-6000 об/хв), пробірок одноразових типу Еппендорфа (місткістю 1,5 см³), стрічки синьої, як сухого фільтра, комп'ютера з програмою «Мультіхром». Реактиви: оксид хрому (VI), діетанолалін, ЦТАБ; вода дистильована.

Спосіб визначення вмісту селену у водному розчині здійснюють у наступній послідовності.

Перед проведенням дослідження приготровляють буферний розчин для оцінки хімічного вмісту, терміну виходу та амплітуди сигналу селену на основі 2 см³ оксиду хрому, 4 см³ діетанолаліну, 2 см³ розчину ЦТАБ при їх молярних концентраціях 0,025 моль/дм³, 0,05 моль/дм³ і 3 мг/дм³, відповідно, та 2 см³ води дистильованої. Надалі електролітичне середовище осаджують доданням води дистильованої при співвідношенні частин 1:10, чим зменшують рівень присутності сторонніх хімічних елементів, забезпечують оптимальну чутливість та можливість міграції аніонів селену в бік до катоду. Перед поляризацією досліджувану пробу піддають дегазації, що сприяє її безперешкодному входженню у просвіт кварцового капіляра. Для поляризації аніонів селену, забезпечення їх форетичної рухомості, зменшення впливу «шумів» на електрофореграму та отримання профілю аніонів селену у подальшому, до проби додають осаджений буфер у співвідношенні 1:1. Між поляризованою пробю та електролітичним середовищем розміщують кварцовий капіляр, аналізатор оптичної щільності встановлюють впритул до кінця останнього та комутують ланцюги високовольтного живлення, чи забезпечують формування електроосмотичного потоку.

Електроосмотичний потік отримують у умовах капілярного електрофорезу за стандартних умов [2-4]. Процес супроводжують детектуванням, скануванням оптичної щільності проби на довжині хвилі аналізатора 254 нм, під час міграції аніонів в кварцовому капілярі до катоду. Формують електрофореграму, з використанням комп'ютера та програми «Мультіхром» (див. звітний документ програми). При обчисленні пікової площі сигналу селену дотримуються спеціальних вимог до виконання вимірів [4] та перетворюють вихідні дані у показник кількісного вмісту селену.

При експериментальній перевірці технічних властивостей корисної моделі використали серії проб водних розчинів селену різних концентрацій (від 10 до 500 мкг/дм³). При концентрації селену біля 300 мкг/дм³, спостерігали, що площа піку вихідного сигналу перевищувала рівень «шумів» аналізатора майже у 10 разів.

При концентрації селену менш ніж 10 мкг/дм³ формування вихідного сигналу було критичним до рівня «шумів», а період його виведення майже не змінювався. Тому оптимальна чутливість способу до визначення рівня концентрації селену у водному розчині становить 10-300 мкг/дм³.

Приклад

Використали установку «Капель-103 РТ» (НПФ «Люмекс» РФ). кварцовий капіляр ($\varnothing 0,075$ мм, завдовжки 600 мм), набір терез лабораторних 2 класу, міри маси, дозатори піпеточні змінних обсягів, рН метр, центрифугу (5000 об/хв), пробірки одноразові типу Еппендорфа (місткістю 1,5 см³), стрічку синю, як сухий фільтр, комп'ютер з програмою «Мультіхром». Реактиви: оксид хрому (VI), діетанолалін. ЦТАБ: воду дистильовану.

Приготровляли буферну суміш на основі 2 см³ оксиду хрому, 4 см³ діетанолаліну, 2 см³ розчину ЦТАБ при молярних концентраціях залучених розчинів 0,025 моль/дм³, 0,05 моль/дм³ і 3 мг/дм³, відповідно, та 2 см³ води дистильованої. Буфер містив 5 ммоль/дм³ хрому, 1,65 ммоль/дм³ ЦТАБ і 20 ммоль/дм³ діетанолаліну. Отримане електролітичне середовище осаджували доданням води дистильованої у співвідношенні 1:10. Пробу водного розчину піддавали дегазації та поляризації. За стандартних умов [2-4] здійснювали капілярний електрофорез, супроводжуючи дослідження детектуванням, скануванням оптичної щільності проби на довжині хвилі аналізатора 254 нм, під час міграції аніонів у бік до катоду, формуванням електрофореграми з використанням комп'ютера та програми «Мультіхром». Після появи піку до поляризованого розчину додавали 20 мкг вихідного розчину селену при концентрації 50 мкг/дм³ і знов проводили вимірювання. Площа піку сигналу селену на електрофореграмі значно збільшувалась, що інформувало про його присутність у досліджуваній пробі (див. додаток - звітний документ програми «Мультіхром»). При обчисленні пікової площі сигналу селену на електрофореграмі дотримувались вимог до виконання вимірів [4], та перетворювали вихідні дані в показник кількісного вмісту.

Таким чином, опис корисної моделі доводить можливість відтворення конкретної медичної задачі з використанням відомих контрольно-аналітичних засобів, констатує наявність логічного причинно-наслідкового зв'язку з кінцевим результатом, що має прикладне значення у сфері її переважного використання. Приклад конкретного здійснення способу доводить, як про можливість визначення концентрації селену вперше у водному розчині, так і про розширення меж застосування капілярного електрофорезу. Корисність пропонованого об'єкта, завдяки доопрацюванню форетично-регенеративної фази, та зміни напряму електроосмотичного потоку, зумовлена отриманням прийнятної достовірності кінцевого результату й високою чутливістю впізнання селену (10-300 мкг/дм³). Заявлений технічний результат може бути багаторазово відтворений з однаковим наслідком, що підтверджує вирішення поставленої задачі у повному обсязі. В тім, запропоноване рішення задачі відповідає умові корисної моделі «промислова придатність».

Джерела інформації:

1. Способ определения состава лекарственной формы: Заяв. 97106926 РФ. МПК G01N33/52 / Т.С.Малолеткина (РФ). - №97106926/14; Заявл.25.04.97; Опубл. 20.04. 99.

2. Спосіб визначення вмісту рибоксину у вод-



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **20629** (13) **U**
(51) МПК
A61B 5/0484 (2007.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ НЕЙРОХІМІЧНОЇ ОЦІНКИ ФОРМУВАННЯ УМОВНОЇ РЕАКЦІЇ ПАСИВНОГО УНИКНЕННЯ ТВАРИНИ

1

(21) u200512600
(22) 26.12.2005
(24) 15.02.2007
(46) 15.02.2007, Бюл. № 2, 2007 р.
(72) Чорна Валентина Іванівна, Дроздов Олексій Леонідович
(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
(57) Спосіб нейрохімічної оцінки формування умовної реакції пасивного уникнення тварини, що

2

включає створення умовної реакції шляхом комбінаційного світлового та електричного впливів і наступне дослідження проникності мембран лізосом великих півкуль мозку, який **відрізняється** тим, що додатково визначають рівень вільної активності лізосомного цистеїнового катепсину Н у фронтальній зоні неокортексу, гіпокампі, Варолієвому мості, медіальному таламусі й смугастому тілі.

Спосіб відноситься до медицини, насамперед до визначення, вимірів або реєстрації з діагностичною метою після виклику відповідних реакцій і може бути використаний в теоретичній чи клінічній психології, нейрофізіології, невропатології тощо. Відомий спосіб оцінки формування умовної реакції пасивного уникнення тварини, що включає формування реакції, візуальну реєстрацію та хронометраж окремих компонентів поведінки після початку навчання [1].

До причин, що перешкоджають досягненню очікуваного технічного результату відносяться як візуалізація компонентів поведінки, так і хронометраж його окремих компонентів. Це пояснюється тим, що звичайна візуалізація позбавлена кількісних характеристик, хронометраж має суто суб'єктивний характер, а сукупність цих прийомів значно знижує вірогідність оцінки результатів формування умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) тварини.

Більш висока вірогідність результатів формування УРПУ властива способу, що ґрунтується на реєстрації змін клітинних контактів головного мозку, в якому після навчання тварини визначають кількість експресії глікопротеїну NCAM (Neural Cell Adhesion Molecule) в різноманітних структурах головного мозку [2].

Кількісне визначення експресії глікопротеїну NCAM відбиває залежність концентрацій білка, відповідального за процеси структурного синаптичного ремоделювання та аксонального зростання від характеру поведінки тварини [3], а від так, забезпечує оцінку ступеня участі окремих утворень головного мозку в процесі формування умовно-рефлекторних реакцій. Але зменшення уваги до активності катепсинів, властивих процесам катаболічного білкового обміну часто обмежує інформативність відомого технічного рішення.

Відомий спосіб оцінки формування умовної реакції пасивного уникнення тварини, що включає утворення умовної реакції та наступне дослідження активності кислої фосфатази, РНК-ази, катепсинів, як лізосомних ферментів, до гемоглобіну в корі й гіпокампі головного мозку [4].

Дослідження вільної активності чисельних лізосомних ферментів дещо підвищує інформативність об'єкта, насамперед, завдяки визначенню рівня протеолізу катепсинів в структурах мозку, але активність останніх відбиває лише сумарну протеолітичну реакцію до гемоглобіну, а від того, стримує подальший розвиток інформативності, а інколи є неспроможним при оцінці формування УРПУ для щурів деяких ліній.

Найбільш близьким по кількості істотних ознак до заявленого способу є спосіб нейрохімічної оцін-

ки формування умовної реакції пасивного уникнення тварини, що включає утворення умовної реакції шляхом комбінаційного світлового і електричного впливів і наступне дослідження проникності мембран лізосом великих півкуль мозку, з визначенням активності кислоти фосфатази, РНК-ази, а проникності мембран лізосом великих півкуль мозку - по концентрації лізосомних фракцій в гомогенатах останніх [5].

Як і попереднє технічне рішення, прототип забезпечує реєстрацію слідів навчання тварин по зміні проникності мембран лізосом мозку, а за рахунок умовного та безумовного подразнень, а саме, комбінації світлового та електричного впливів - посилення ефективності формування УРПУ тварини після навчання у щурів відомих ліній.

Проте, ігнорування визначення вмісту лізосомної кислоти протеїнази чи протеолізу у фронтальній зоні неокортексу, гіпокампі, Варолієвому мості, медіальному таламусі, смугастому тілі при виробленні УРПУ ще стримує інформативність об'єкта, бо зміна рівня вільної активності катепсину в них більш компетентно відбиває зміни рівня проникності мембран лізосом, а кисла фосфатаза разом з РНК-азою головного мозку, навпаки, виглядають під час протеолізу та модифікації білків не досить інформативними до відбиття слідів формування нейрологічної пам'яті й рівня вільного катепсину Н у великих півкулях мозку.

В основу заявленого способу поставлено задачу розробити такий спосіб нейро-хімічної оцінки формування умовної реакції пасивного уникнення тварини, який шляхом залучення структур головного мозку, що відповідають за формування пам'яті, забезпечує покращення інформативності при використанні.

Для вирішення поставленої задачі у відомому способі нейрохімічної оцінки формування умовної реакції пасивного уникнення тварини, що включає утворення умовної реакції шляхом комбінаційного світлового та електричного впливів і наступне дослідження проникності мембран лізосом великих півкуль мозку, додатково визначають рівень вільної активності лізосомного цистеїнового катепсину Н у фронтальній зоні неокортексу, гіпокампі, Варолієвому мості, медіальному таламусі й смугастому тілі.

Ознаки, які відрізняють пропонований спосіб нейрохімічної оцінки формування умовної реакції пасивного уникнення тварини від прототипу полягають у додатковому визначенні рівня вільної активності лізосомного цистеїнового катепсину Н у фронтальній зоні неокортексу, гіпокампі, Варолієвому мості, медіальному таламусі й смугастому тілі та забезпечують покращення інформативності, бо вищезазначені структури головного мозку приймають участь у формуванні енграм пам'яті, а під час протеолізу та модифікації білків відбивають рівні змін цистеїнового катепсину Н і проникності мембран лізосом. Кількісне ж визначення вмісту вільного катепсину Н після вироблення умовної реакції тварини, дозволяє оцінити ступінь й тривалість участі окремих утворень головного мозку в процесі формування умовно-рефлекторної реакції, що констатує покращення інформативності дослідження.

Сукупність наданих ознак дозволяє визначити рівень цистеїнового катепсину Н після формування УРПУ у фронтальній корі, гіпокампі та Варолієвому мості мозкових структур, що у тварин відповідають за формування пам'яті, а від того, має зв'язок з покращенням заявленого технічного результату. Зміни концентрації вільного катепсину Н відбивають реакцію лізосомних протеїназ на формування, кодування та відтворення слідів нейрологічної пам'яті, наприклад, на молекулярних, надмолекулярних, субклітинних і міжклітинних рівнях.

На Фіг. надана діаграма, що ілюструє розподіл рівня вільної активності цистеїнового катепсину Н у фронтальній корі (1), смугастому тілі (2), гіпокампі (3), медіальному таламусі (4) та Варолієвому мості (5) головного мозку інтактних, навчених і анам-незованих щурів після формування УРПУ.

Відомості, які підтверджують можливість відтворення способу полягають у наступному.

Для здійснення способу нейрохімічної оцінки формування УРПУ тварини можливо залучення білих статевозрілих щурів, спеціалізованого приміщення для їх подразнення, складеного з великої освітленої та малої темної камер, що поєднані круглим отвором і постачені електрифікованою підлогою, а для визначення кількісного вмісту катепсину Н-гомогенати на трис-буферній основі ("Sigma", USA), гідролізат 2-нафіламіду L-лейцину ("Koch-Light Laboratories", Англія) та спектрофотометр.

Сутність способу нейрохімічної оцінки формування УРПУ тварини полягає в утворенні умовної реакції шляхом комбінаційного світлового та електричного впливів, в дослідженні проникності мембран лізосомних фракцій, вмісту лізосомного цистеїнового катепсину Н у фронтальній зоні неокортексу, гіпокампі, Варолієвому мості, медіальному таламусі та смугастому тілі. Визначення кількості цистеїнового катепсину Н в гомогенатах виділених структур здійснюють шляхом гідролізу хромогенного субстрату лей-2-НА, з використанням спектрофотометра та ультрацентрифуги після відповідної обробки аналізу в буферних розчинах.

Для перевірки інформативності способу був проведений експеримент (Таблиця 1). Перед формуванням УРПУ щура, його розташовували в середині освітленої камери, хвостом до отвору в темний відсік приміщення. Тварина досліджувала освітлений відсік, знаходила отвір у темну камеру та переходила до неї. Латентний період такої реакції враховували як час з моменту розміщення тварини в камері, до повного переходу до темної камери. Через 15с на підлогу камери подавали змінний імпульсний струм (тривалістю, щонайменше 10мс), інтенсивність стимуляції для кожної з тварин підбирали індивідуально за порогом больової чутливості. Отвір між камерами залишали відчиненим. За щуром, який переміщувався до освітленої камери та намагався повернутися до темного приміщення спостерігали протягом 3-х хвилин. Тварин, які повторно заходили до темної камери протягом 3-х хвилин з експерименту вилучали. Через 2 години після вироблення пасивного оборонного навичку кожну з тварин піддавали

електрошокому впливу ($I=200\text{mA}$, $t=500\text{мс}$) для виклику амнезії та втрати УРПУ. Протягом 72 годин спостерігали за поведінкою навчених щурів, а коли вони не відрізнялись від поведінки інтактних щурів, здійснювали перевірку збереження умовної реакції. За результатами перевірки щурів розділяли на 2 групи: з амнезією, втратою навички (30%) та збереженням УРПУ (70%). Після декапітації, у тварин вилучали головний мозок і виділяли фронтальну зону неокортексу, гіпокамп, Варолієв міст, медіальний таламус та смугасте тіло, які відбивають слід феномену пам'яті. Активність вільного катепсину Н, у відповідності з корисною моделлю, визначали у фронтальній зоні неокортексу, смугастому тілі, гіпокампі, медіальній частині таламусу і Варолієвому мості. Гомогенати (10%) готували на 0,025 трисбуфері, виготовленому на основі NaCl (рН 7,4). Фактори активності досліджували спектрофотометричним шляхом, за гідролізом 2-нафтіламід у L-лейцину.

При цьому було встановлено, що у різних структурах мозку досліджуваних тварин при виробленні УРПУ відзначались вірогідні зміни рівнів амінопептидазної активності катепсину Н як у амнезованих тварин, так і тварин, які після електрошокового впливу зберігали умовну навичку. Через 72 години спостерігалось виражене підвищення активності ферменту у всіх структурах мозку тих щурів, що зберегли навичку з істотними змінами у фронтальній корі, гіпокампі та Варолієвому мосту, наприклад, у 3,2, 2,8 і 1,9 рази, відповідно, при $p<0,05$.

Порівняння рівнів амінопептидазної активності цистеїнового катепсину Н у інтактних, навчених і амнезованих тварин (мкмоль-рНА на 1мг білка) інформувало про різноспрямований характер змін у мозкових структурах: збільшення активності у фронтальному неокортексі та Варолієвому мосту у

2,5 та 1,9 рази та зниження її рівня в гіпокампі та смугастому тілі у 2,0 і 4,5 рази, відповідно (див. діаграму).

Отже, підвищення вільної активності катепсину Н інформує про збільшення проникності мембран лізосом мозку, а разом із цим про отримання інформації більш високого порядку. Пропонований спосіб нейрохімічної оцінки формування УРПУ тварини може бути корисним, бо ґрунтується на залученні тих структур головного мозку тварини, які об'єктивно відповідають за формування пам'ятного сліду, а його використання в нейрофізіології, невропатології, теоретичній або клінічній психології, може забезпечити більш достовірні дослідження при використанні меншої кількості лабораторних тварин розповсюджених лабораторних ліній.

Джерела інформації:

1. Буреш Я., Бурешова О. і Хьюстон П. Дж. Методи и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа, 1991. - 236с.
2. Дроздов О.Л., Лещинська І.О., Кошелєв О.С., Чорна В.І. Вміст молекули клітинної адгезії NCAM в структурах головного мозку щурів при відтворенні умовної реакції пасивного уникнення // Neurophysiology. - 1999. - Vol.131. - №1. - С.73-75.
3. Landmesser L. Synaptic plasticity: fastening synapses by adhesion // Curr. biol. - 1997. - Vol. 628. - P.286-292.
4. Дергачев В.В. Молекулярные и клеточные механизмы памяти. М.: Медицина, 1977. - 250 с.
5. Нечаева Г.А., Лопатина Н.Г. Проницаемость мембран лизосом головного мозга для кислой РНК-азы при обучении крыс различной линии // Нейрохимия. 1987. - Т.6. - №4. - С.590-595.
6. Покровский А.И., Тутельян В.А., Лизосомы. М.: Наука, 1976. - 567с.

Таблиця 1

Експериментальні дані щодо нейрохімічної оцінки формування УРПУ тварин за вмістом цистеїнового катепсину Н в структурах головного мозку щурів

Лабораторні тварини	Кількість активності цистеїнового катепсину Н у досліджених структурах головного мозку, у мкмоль-рНА на 1мг білка				
	фронтальна кора	смугасте тіло	гіпокамп	медіальний таламус	Варолієв міст
інтактні	0,102±0,01	0,253±0,025	0,153±0,014	0,251±0,025	0,123±0,02
навчені	0,313±0,028	0,333±0,038	0,425±0,039	0,285±0,027	0,236±0,021
амнезовані	0,263±0,025	0,126±0,011	0,105±0,01	0,235±0,021	0,236±0,021



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **24151** (13) **U**
(51) МПК (2006)
G01N 30/00
G01N 33/03 (2007.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЗАСТОСУВАННЯ СПОСОБУ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ СЕЛЕНУ У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ ЯК СПОСОБУ ОЦІНКИ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОЇ НАСТОЙКИ, ПЕРЕВАЖНО ВАЛЕРІАНИ

1

(21) u200614061

(22) 29.12.2006

(24) 25.06.2007

(46) 25.06.2007, Бюл. № 9, 2007 р.

(72) Георгієвський Віктор Петрович, Дроздов Олексій Леонідович, Вяткін Олександр Костянтинович, Рудько Андрій Миколайович, Кошелев Олег Станіславович

2

(73) Георгієвський Віктор Петрович, Дроздов Олексій Леонідович, Вяткін Олександр Костянтинович, Рудько Андрій Миколайович, Кошелев Олег Станіславович

(57) Застосування способу визначення концентрації селену у водному розчині як способу оцінки якості лікарської настоянки, переважно валеріани.

Корисна модель відноситься до досліджень або аналізу матеріалів шляхом їх розділення на складові частини, досліджень лікарських форм медичних препаратів, одержуємих шляхом витягу діючих компонентів з лікарської сировини за допомогою спиртового, водного або суміші екстрагентів і може бути використаною у фармацевтичних, хімічних і медичних лабораторіях.

Відомий спосіб визначення складу лікарської форми, що включає розділення суміші хроматографічним шляхом у градієнтному режимі, з використанням фосфатного буферу на основі метанолу, і троекратне визначення кількісного вмісту досліджуємих фракцій за допомогою аналізатора [1]. Це зумовлює регенерацію, виділення та визначення концентрацій деяких вітамінів у лікарській суміші. Проте, розширення функціональних резервів наданого способу істотно обмежується його хроматографічною основою, насамперед, використанням метанолу у фосфатному буфері, як зайвої та шкідливої домішки, що впливає на результати ідентифікації та об'єктивності якісної оцінки активних компонентів лікарської форми, зв'язаною з необхідністю забезпечення високого рівня поляризації, умов повноцінної екстракції досліджуємих речовин та оптимальній чутливості аналізатора на певній довжині хвилі. Від того, використання методики за цих умов стає непридатним до якісного аналізу, оскільки призводить до викривлення даних кількісного вмісту, особливо лікарських настоїв, виготовлених з сировини рослинного походження за допомогою спиртового, водного або змішаних екстрагентів.

До основи корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб оцінки якості лікарської настоянки, переважно, валеріани, який шляхом капілярного електрофорезу підвищує чутливість детектування активних речовин, що виділені з рослинної сировини за допомогою екстрагентів, та розширює межі його використання.

Вищезазначений технічний результат досягається використанням способу визначення концентрації селену у водному розчині [2], вперше, як способу оцінки якості лікарської настоянки, переважно, валеріани, що відповідає критерію «новизна».

На Фіг. зображена електрофореграма спиртової проби настоянки валеріани зі спектром піків її вмісту.

Для здійснення способу оцінки якості лікарської настоянки, переважно, валеріани за умов способу визначення концентрації селену у водному розчині, що ґрунтується на капілярному електрофорезі [2] виготовляють буферну суміш на основі 2см³ оксиду хрому, 4см³ діетанолаліну, 2см³ розчину цетілтриметил амонія броміду (ЦТАБ) при молярних концентраціях 0,025мол/дм³, 0,05мол/дм³ і 3мг/дм³, відповідно, та 2см³ води дистильованої. Для розділення на складові та ідентифікації вмісту проби валеріани залучають систему «Капель» для капілярного електрофорезу. На довжині хвилі аналізатора 254нм реєструють ультрафіолетове поглинання діючих речовин в настійці, обробляють їх оптичну щільність, отримують електрофореграму спектру піків, частота та амплітуда яких характеризує кількісно-якісний

вміст через площини піків, які визначають за допомогою програмного забезпечення. Завдяки збільшенню потенціалів поляризації іонів досліджуваних речовин, тривалості їхньої експозиції між періодами утримання в екстрагенті, підвищенню повноцінності ідентифікації та відсутності метанолу у буферному середовищі, чутливість детектування підвищується у 1,3-1,5 рази та виключається спотворення результатів аналізу екстракту діючих речовин.

Приклад. Використали установку «Капель-103РТ» НПФ «Люмекс» (РФ), оксид хрому ($0,025 \text{мол/дм}^3$), діетанолалін ($0,05 \text{мол/дм}^3$), розчин ЦТАБ ($3,0 \text{мг/дм}^3$), воду дистильовану (ГОСТ 6709-72), програмне забезпечення «Мультіхром» (РФ) і комп'ютер.

Буферну суміш отримували шляхом змішування $2,0 \text{см}^3$ оксиду хрому, $4,0 \text{см}^3$ діетанолаліну, $2,0 \text{см}^3$ розчину ЦТАБ (3мг/дм^3) та 2см^3 води дистильованої.

Ідентифікацію та розділення її вмісту на складові здійснювали в умовах капілярного електрофорезу, з використанням устаткування «Капель-103РТ», дотримуючись параметрів технологічного режиму: напруги - 10кВ, тривалість аналізу - 15хв., час введення проби - 5сек. Під впливом електрофоретичного потоку іони речовин валеріани мігрували крізь капіляр до аноду, завдяки взаємодії із зарядженими молекулами форетичного середовища. За допомогою детектора ідентифікували та реєстрували оптичну щільність діючих компонентів валеріани на довжині хвилі аналізатора 254нм. За допомогою програми «Мультіхром» перетворювали геометричні параметри піків (електричних імпульсів) наявних діючих речовин в настійці валеріани у цифрові показники та визначали їх кількісний вміст у пробі. Час виходу речовин валеріани та амплітуди імпульсів, у залежності від концентрації кожного з компонентів, свідчили про технологічно сприйнятливую чутливість засобу детектування. Для ідентифікації, наприклад, ізовалеріанової кислоти, що відповідає піку №15 на малюнку, залучали 1% розчин останньої. Калібровочні розчини для розпізнавання решти компонентів валеріани складають know-how. За даними площ піків електрофореграми визначали концентрації досліджуваних речовин, формували висновки, щодо відповідності вимогам якості та можливості її використання у лікуванні. Відомості про час виходу і площі піків отримуваних імпульсів складових настійки валеріани надані у таблиці «Капілярно-електрофоретична характеристика настійки валеріани», відповідно до «відбитка» її конкретної проби на електрофореграмі, що доводить спроможність базового об'єкта до кількісної оцінки вмісту діючих речовин лікарської настійки. Аналіз часу виходу та умовної площини піку ізовалеріанової кислоти за допомогою елект-

рофореграми дозволяє оцінювати відповідність настійки валеріани нормативній якості.

Таким чином, наданий приклад доводить можливість реалізації мінімального технічного результату за допомогою устаткування «Капель» і спроможність використання раніше відомого способу визначення концентрації селену у водному розчині як способу оцінки якості лікарської настійки в умовах фармацевтичних, хімічних і медичних лабораторій, що відповідає умові «промислової придатності». Практична значимість запропонованого рішення задачі, у порівнянні з розділенням складових вмісту рідини на складові хроматографічним шляхом, зв'язується з переверненням чутливості детектування компонентів настійки, майже у 1,3-1,5 рази. Розширення меж переважного використання капілярного електрофорезу запобігатиме використанню недоброякісних настійок валеріани та сприятиме покращенню результатів лікування. Характеристика об'єкта, що зазначена у незалежному пункті формули, визначає межі його правового статусу, забезпечує відрізнєння від об'єктів аналогічного призначення, а з урахуванням п.2 Ст.7 Закону і доводів заявника, дозволяє кваліфікувати його корисною моделлю.

Капілярно-електрофоретична характеристика настійки валеріани

№ піків	Час виходу піків, сек.		Площа піків, ум.од.	
	M	±m	S	±s
1	145,886	7,29	0,64	0,02
2	154,86	14,21	0,28	0,05
3	160,44	9,18	0,21	0,02
4	174,42	11,21	0,10	0,04
5	191,28	12,89	0,26	0,05
6	198,12	6,00	0,69	0,11
7	242,40	11,37	0,98	0,14
8	279,18	13,19	0,78	0,06
9	298,02	21,34	0,40	0,07
10	308,04	45,71	2,38	0,29
11	332,10	44,83	1,01	0,18
12	367,56	73,14	0,25	0,12

Аналоги:

1. Способ определения состава лекарственной формы: Заявка 97106926 России, МПК G01N33/52 / Т.С.Малолеткина (Россия). - №97106926/14; заявл.25.04.97; опубл.20.04.99.

2. Спосіб визначення концентрації селену у водному розчині: Пат. №15461 України, МПК: G01N30/00 /Дроздов О.Л., Білецька Е.М., Качанов С.О., Кошелев О.С., Вяткін О.К., Рудько А.М. (Україна). - №u200507645; заявл.01.08.04; опубл.17.07.06.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 24153 (13) U
(51) МПК (2006)
G01N 30/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬВидається під
відповідальність
власника
патенту(54) ЗАСТОСУВАННЯ ТЕТРАБОРАТНОГО БУФЕРА ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ БАРВНИКІВ ЯК
БУФЕРА ДЛЯ ОЦІНКИ ЯКОСТІ ВАЛЕРІАНОВОЇ НАСТОЙКИ

1

(21) u200614081

(22) 29.12.2006

(24) 25.06.2007

(46) 25.06.2007, Бюл. № 9, 2007 р.

(72) Дзяк Георгій Вікторович, Дроздов Олексій Леонідович, Качанов Сергій Олександрович, Вяткін Олександр Костянтинович, Рудько Андрій Миколайович, Кошелев Олег Станіславович

2

(73) Дзяк Георгій Вікторович, Дроздов Олексій Леонідович, Качанов Сергій Олександрович, Вяткін Олександр Костянтинович, Рудько Андрій Миколайович, Кошелев Олег Станіславович

(57) Застосування тетраборатного буфера для визначення концентрації барвників як буфера для оцінки якості валеріанової настойки.

Корисна модель відноситься до досліджень або аналізу матеріалів шляхом їх розділення на складові частини, переважно, лікарських форм та медичних препаратів і може бути використаною у фармацевтичних, хімічних і медичних лабораторіях.

З досліджуваного рівня техніки відомо використання діетіламін-хромоксидного буфера для визначення концентрації селену у водному розчині шляхом капілярного електрофорезу, що включає 2 см³ оксиду хрому (0,025 мол/дм³), 4 см³ діетаноламіну (0,05 мол/дм³), 2 см³ цетілтриметіламонію броміду (ЦТАБ) (3 мг/дм³) й 2 см³ води дистильованої [1]. Склад наведеного буферного розчину зумовлює можливість поділу та визначення неорганічного компонента в межах можливих рівнів поляризації, припустимої чутливості аналізатора та його спроможності до регуляції зв'язків із зарядженими міцелами ЦТАБ. Введенням у буферний розчин ЦТАБ, як катіонної поверхнево-активної речовини, досягають змін напрямку електроосмотичного потоку, полярностей зарядів подвійного електричного шару на стінках капіляра та сполучення напрямків електроосмотичного потоку й аніонів, що рухаються від вхідного кінця капіляра до аналізатора. Але його використання для досліджень багатоскладових сумішей катіонної структури, насамперед таких, які створюються витягом компонентів з рослинної сировини за допомогою спиртового чи водного екстрагентів, зв'язане з певними труднощами і обмеженнями, які можуть призвести до спотворення шуканих результатів. Це пояснюється тим, що визначення катіонних

компонентів у пробі вимагає щораз змінювати полярність напруги, що призведе до зміни напрямків міграції катіонів, електроосмотичного потоку та перешкоджатиме повільному переміщенню мігруючих катіонів у бік аналізатора. Окрім цього, зниження ЦТАБ в електролітичному середовищі погіршує активність міцел, як представників колоїдної фази, а підвищення призводить до виснаження електролітичного розчину, що погіршує чутливість аналізатора та призводить до помилкових результатів, внаслідок появи аномальних форм піків, перекручених погіршенням чіткості їх окреслення на електрофореграмі. Оксид хрому у буферному розчині на протязі доби теж погіршує електрокінетичні здібності, знижує електролітичну стабільність і практично зв'язується з необхідністю виготовлення робочих буферів напередодні досліджень або з дотриманням ретельних умов, щодо їх зберігання.

До основи корисної моделі поставлено задачу розробити буфер для оцінки якості валеріанової настойки, який шляхом зміни компонента колоїдної фази на аніонну поверхнево-активну речовину покращує електролітичну стабільність, збільшує технологічну чутливість аналізатора, об'єктивність кінцевого результату та поліпшує експлуатаційні зручності при дослідженні речовин катіонної структури.

Вищезазначений технічний результат досягається використанням тетра-боратного буфера для визначення концентрації барвників [2], вперше, як буфера для оцінки якості валеріанової настойки, що відповідає критерію «новизна».

На Фіг.1 зображена електрофореграма проби

настойки валеріани, що отримана за рахунок використання діетіламін-хромоксидного буфера, на Фіг.2 - теж саме, за рахунок використання тетраборатного буфера.

При оцінці якості валеріанової настойки, з катіонною структурою вмісту, пропонується використання тетраборатного буфера, що використовується для визначення концентрації барвників у розчинах [2]. До вмісту буфера включають борну кислоту, тетраборат натрію, додецилсульфат натрію та воду дистильовану.

Спочатку приготівляють вихідний буферний розчин на основі борної кислоти, тетраборату натрію та води дистильованої, при наступному співвідношенні компонентів, см³:

борна кислота, при концентрації 0,2моль/дм ³	5,5
тетраборат натрію, при концентрації 0,05моль/дм ³	6,5
вода дистильована	38,0

Надалі до 25,0см³ вихідного буферного розчину додають додецилсульфат натрію й воду дистильовану, при наступному співвідношенні компонентів, см³:

вихідний буферний розчин	25,0
додецилсульфат натрію, при концентрації 0,2моль/дм ³	10,0
вода дистильована	15,0

Використання розчинів борної кислоти й тетраборату натрію у вихідному буфері надає розчину електролітичні властивості. Додання до цієї суміші послабленого додецилсульфату натрію зумовлює нейтральним катіонам складових вмісту валеріанової настойки при міграції від вхідного кінця капіляра до аналізатора форетичну рухомість та регулює зв'язок останніх із зарядженими міцелами додецилсульфату натрію. Перевернення технічного результату ґрунтується на зміні катіонного компонента колоїдної фази на аніонний, наприклад, ЦТАБ на додецилсульфат натрію. Це зв'язується із тим, що добавка додецилсульфату натрію, як поверхнево-активної речовини, до вихідного буфера надає змогу змінити напрям електроосмотичного потоку і підготувати поверхню кварцового капіляра, з можливістю зміни знаків зарядів його подвійного електричного шару на протилежні, сполучити напрями переміщення електроосмотичного потоку катіонів валеріанової настойки, без потреби у зміні полярності джерела високовольтної напруги. Катіони ЦТАБ активно сорбуються на кварцовій поверхні капіляру, займаючи усі вакансії поверхневого шару. При цьому поверхня капіляру набуває вигляд довгих цетильних ланцюжків, які при його подальшому промиванні цим же буфером сприяють сорбуванню додаткового поверхнево-активного катіонного шару. Це сприяє не лише поляризації «електричних шарів» і дифузійної частини капіляра, але й поліпшенню електрокінетичних властивостей буферного розчину та умов міграції електроосмотичного потоку в напрямі від вхідного кінця капіляра до детектора, а від того, збільшує чутливість аналізатора, об'єктивність кінцевого результату за рахунок усунення помилок, що виникають внаслідок аномального характеру форм піків на електрофо-

реграмі (Фіг.1,2). Водночас, виключення ЦТАБ і оксиду хрому підвищує як електролітичну стабільність, так і експлуатаційні зручності, внаслідок усунення технологічних обмежень та спрощення умов зберігання буферного розчину.

Роботу буфера для оцінки якості валеріанової настойки можливо демонструвати наступним прикладом.

Для розділення на складові та ідентифікації вмісту проби валеріани залучали промислову систему капілярного електрофорезу «Капель-103Р» (виробництва РФ), кварцовий капіляр Ø 0,075мм і довжиною 600мм, програмне забезпечення «Мультіхром» і комп'ютер. Реактиви: борна кислота (0,2моль/дм³), тетраборат натрію (0,05моль/дм³), борна кислота (0,2моль/дм³), додецилсульфат натрію (0,2моль/дм³), вода дистильована (ГОСТ 6709-72).

Приготівляли вихідний буферний розчин, см³:

борна кислота, при концентрації 0,2моль/дм ³	5,5
тетраборат натрію, при концентрації 0,05моль/дм ³	6,5
вода дистильована	38,0

До вихідного буферного розчину додавали додецилсульфат натрію, як аніонну поверхнево-активну речовину, й воду дистильовану, см³:

вихідний буферний розчин	25,0
додецилсульфат натрію, при концентрації 0,2моль/дм ³	10,0
вода дистильована	15,0

Розділення вмісту валеріанової настойки на складові досягали шляхом капілярного електрофорезу, з використанням устаткування «Капель-103 РТ». Під впливом додецилсульфату натрію, як поверхнево-активної речовини, формувалася напрям електроосмотичного потоку зі зміною напрямку електроосмотичного потоку. Підготування поверхні кварцового капіляра відбувалось зі зміною знаків зарядів подвійного електричного шару на протилежні та можливістю сполучення напрямів переміщення електроосмотичного потоку катіонів діючих речовин валеріани без потреби у зміні полярності джерела високовольтної напруги. В умовах електрофоретичного потоку катіони додецилсульфату натрію активно сорбувались на кварцовій поверхні капіляру, займаючи вакансії його поверхневого шару, а катіони діючих речовин валеріани мігрували крізь капіляр у бік аналізатора. Протягом часу компоненти досліджувані валеріанової настойки, які були заряджені потенціалами борної кислоти та тетраборату натрію, переміщувались адекватно до набутої електричної рухомості. Катіонний масив компонентів проби, рухаючись до катоду, випереджав електроосмотичний потік, завдяки пошаровій поляризації поверхні та активації дифузійної частини капіляра, яка спричинила покращення умов міграції електроосмотичного потоку в напрямі від вхідного кінця капіляра до детектора, причому цьому швидкість такого складалася зі швидкості електрофоретичного потоку та швидкості електроміграції, а катіонні компоненти з більшою електричною рухливістю іонів на виході капіляра з'являлися першими. Нейтральні ж компоненти проби переміщувались лише

під впливом електрофоретичного потоку та з'являлись на виході по досягненню зони детектування. Аніонні ж компоненти мігрували до аноду з різними швидкостями, а більш повільні з'являлись поблизу детектора після виходу електрофоретичного потоку. Компоненти, швидкість міграції яких у абсолютному виразі перевищувала швидкість електрофоретичного потоку, виходили в межах технологічного регламенту з капіляра у прианодний простір.

За допомогою аналізатора ідентифікували діючі компоненти валеріани та реєстрували їх оптичну щільність на довжині його хвилі 254 нм. Використання програми «Мультіхром» дозволило автоматизувати оцінку та обробку даних, шляхом перетворення геометричних параметри піків (електричних імпульсів) діючих речовин валеріани у цифрові показники кількісного вмісту. Використовуючи певні калібровочні розчини, ідентифікували усі діючі компоненти валеріанової настойки. Наприклад, використання 1% розчину ізовалеріанової кислоти дозволяло визначати таку у пробі. Дані, щодо розпізнавання решти діючих компонентів валеріани складають know-how. За даними концентрацій досліджуваних речовин формували висновки, щодо відповідності настойки валеріани вимогам якості та можливості її використання для лікування.

Прийнятна чутливість аналізатора в умовах експлуатації тетраборатного буфера була підтверджена чіткістю окреслення піків, збільшенням амплітуд імпульсів на електрофореграмі та замалим розкидом усереднених значень шуканих параметрів, який становив $\pm 5\%$ за даними експериментів. Вимірювання за таким класом точності, разом зі скороченням часу виходу кожної з діючих речовин валеріани, свідчило про збільшення технологічно сприйнятливої чутливості аналізатора в умовах експлуатації тетраборатного буферу та об'єктивності оцінки, більше ніж у 3,5-4,5 рази. Під час здійснення капілярного електрофорезу та підготовки до нього були відзначені експлуатаційно-утилітарні переваги використання тетраборатного

буфера над діетіламін-хромоксидним, які убачалися у відсутності фактів його електролітичного виснаження, погіршення електрокінетичних властивостей, в усуненні технологічних обмежень й труднощів, зв'язаних з терміном виготовлення та зберігання, зниженням токсичності, можливістю попереднього виготовлення тощо.

Таким чином, використання тетраборатного буфера для визначення концентрації барвників як буфера для оцінки якості валеріанової настойки є набагато ефективним у порівнянні з його діетіламін-хромоксидним аналогом. Незважаючи на специфічність параметрів електроміграції серед широкого представництва багатоскладових сумішей катіонної структури, його використання за новим призначенням, збільшує можливість суттєвого послаблення збудовань дифузійних, сорбційних, конвекційних, гравітаційних й інших фізичних процесів у кварцових капілярах, що покращує ефективність ідентифікації, виявлення та аналізу свідомо передбачуваних і прихованих складових їхнього вмісту, що відповідає умові «промислова придатність». Використання пропонованого рішення задачі в хіміко-аналітичній практиці сприятиме за рахунок незаперечних переваг над іншими об'єктами аналогічного призначення динамічному розвитку методичного забезпечення та прискоренню становлення капілярного електрофорезу. Характеристика об'єкта, що зазначена у формулі, визначає межі його правового статусу, забезпечує відрізнєння від об'єктів аналогічного призначення, а з урахуванням п.2 Ст.7 Закону і доводів заявника, дозволяє кваліфікувати його корисною моделлю.

Аналоги:

1. Спосіб визначення концентрації селену у водному розчині: Пат. №15461 України, МПК: G01N 30/00 / Дроздов О.Л., Білецька Е.М., Качанов С.О., Кошелев О.С., Вяткін О.К., Рудько А.М. (Україна). - №U200507645; заявл. 01.08.04; опубл. 17.07.06.

2. Державна Фармакопея України. ДП «Науково-експертний центр»: Тетраборатний буфер для оцінки барвників. - Харків: PIPEG, 2001. - 288 с.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 24155 (13) U

(51) МПК (2006)

G01N 30/00

G01N 30/04 (2007.01)

G01N 35/10

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ РЕГЕНЕРАЦІЇ КАПІЛЯРА ДЛЯ ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ

1

(21) u200614097

(22) 29.12.2006

(24) 25.06.2007

(46) 25.06.2007, Бюл. № 9, 2007 р.

(72) Дзяк Георгій Вікторович, Дроздов Олексій Леонідович, Качанов Сергій Олександрович, Вяткін Олександр Костянтинович, Рудько Андрій Миколайович, Кошелев Олег Станіславович

(73) Дзяк Георгій Вікторович, Дроздов Олексій Леонідович, Качанов Сергій Олександрович, Вяткін Олександр Костянтинович, Рудько Андрій Миколайович, Кошелев Олег Станіславович

2

(57) Спосіб регенерації капіляра для електрофореzu, що включає послідовне промивання порожнини розчином натрію гідроксиду, водою дистильованою та робочим буфером, який відрізняється тим, що додатково перед промиванням порожнини розчином натрію гідроксиду її промивають водою дистильованою протягом 2 хвилин, концентрацію натрію гідроксиду у розчині доводять до $1,0 \text{ моль/дм}^3$, а тривалість другого промивання водою дистильованою, розчином натрію гідроксиду та робочим буфером - до 3, 3 і 5 хвилин, відповідно.

Корисна модель відноситься до досліджень матеріалів шляхом розділення їх на складові частини, до процесу підготовки введення зразка, що підлягає аналізу, засобів його переміщення та може бути використаною в хімічно-лабораторній практиці.

Найбільш близьким серед об'єктів аналогічного призначення до запропонованої корисної моделі за кількістю істотних ознак є спосіб регенерації капіляра для електрофореzu, що включає послідовну промивку порожнини розчином натрію гідроксиду, водою дистильованою та робочим буфером, при цьому концентрація натрію гідроксиду у розчині становить $0,5 \text{ моль/дм}^3$, а тривалість щаблів промивки складає 1,1, 2 хвилини, відповідно [1]. Відоме технічне рішення ґрунтується на здатності розчину натрію гідроксиду виводити назовні абсорбовані речовини, що накопичуються на внутрішній поверхні капіляру ($\varnothing 30\text{-}100 \text{ мкм}$) у вигляді нерухомого шару, та звільнювати тим самим сілаксальні групи, які дисоціюють з відщипленням іонів H^+ , складаючи перешкоду іонам досліджуваного аналізату під час міграції від вхідного кінця капіляра до детектора, під впливом електроосмотичного потоку. Послідовність, режим промивки і перелік промивних розчинів призначені, переважно, для підготовки капілярів, які працюють з неорганічними аналізатами, а їх обслуговування після роботи з речовинами органічного або рослинного похо-

дження часто супроводжується низькою якістю, внаслідок часткової або повної відсутності регенерації раніш абсорбованих речовин. Аналіз електрофореграм після досліджень кількісного вмісту речовин валеріанової настойки шляхом капілярного електрофореzu та промивки капіляру за умов прототипу виявив незадовільну, а у багатьох випадках і повну відсутність його працездатності. Це підтверджується грубим розкидом геометричних форм піків, часу виходу та амплітуд електричних імпульсів досліджуваних речовин у настійці, збільшенням термінів розділення вмісту аналізату у кожній наступній пробі на 10-20%, що перевищує допуск нормативного регламенту. Тож відомий спосіб регенерації капіляра істотно обмежує його «промислову придатність», оскільки, у разі його підготовки до дослідження речовин органічного або рослинного походження, затрачається біля 120 хвилин робочого часу.

До основи корисної моделі поставлено задачу вдосконалити спосіб регенерації капіляра для електрофореzu, який шляхом посилення регенерації залишкових зарядів абсорбованих речовин за рахунок рекомбінації приймачів у їх послідовності й модифікації технологічного режиму підвищує продуктивність промивки при використанні.

Вищезазначений технічний результат досягається тим, що при здійсненні корисної моделі, у відомому спосіб регенерації капіляра для елект-

рофорефу, що включає послідовну промивку порожнини розчином натрію гідроксиду, водою дистильованою та робочим буфером, у відповідності з корисною моделлю, додатково перед промивкою порожнини розчином натрію гідроксиду її промивають водою дистильованою на протязі 2 хвилин, концентрацію натрію гідроксиду у розчині доводять до $1,0 \text{ моль/дм}^3$, а тривалість другої промивки водою дистильованою, розчином натрію гідроксиду та робочим буфером - до 3, 3 і 5 хвилин, відповідно.

Новизна пропонованого рішення задачі базується використанні додатково шабля промивки, зміні послідовності приймань і технологічного режиму регенерації.

Причинно-наслідковий зв'язок сукупності відмінних ознак з вищезазначеним технічним результатом полягає у наступному.

Додаткове промивання порожнини водою дистильованою на протязі 2хв. перед впливом розчином натрію гідроксиду зумовлює не лише механічне вилучення залишків попереднього зразка, але й зменшення осмотичного шоку, що дозволяє послабити заряди раніш абсорбованих речовин у глибоких шарах капіляру. Зменшення тривалості промивки не доцільне, оскільки зв'язується з можливістю втрати підвищення продуктивності промивки. Промивання порожнини капіляру на другому шаблі промивки розчином натрію гідроксиду зв'язується з інтенсифікацією впливу ($1,0 \text{ моль/дм}^3$) на залишки хімічних сполук, які корелюють з представниками сілаксальних груп, дисоціюючи з відщипленням іонів H^+ , і стримують рух іонів досліджуваного аналізу під час електроосмосу, та їх остаточним переведенням у розчинний стан. Зниження пропонованої тривалості промивки (3хв.) розчином натрію гідроксид, як і його концентрації у розчині, не доцільне, оскільки зв'язується з втраченою можливістю підвищення продуктивності промивки та зниженням інтенсивності регенерації залишкових зарядів абсорбованих речовин. Промивання порожнини капіляру на третьому шаблі промивки «новою» дистильованою водою на протязі 3хв. дозволяє механічно та осматично вивільнити порожнину від послаблених залишків розчинених хімічних сполук. Зменшення тривалості промивки «новою» дистильованою водою не доцільне, оскільки теж зв'язується з можливістю втрати підвищення продуктивності промивки. Доведення терміну промивки робочим буфером до 5хв. на останньому шаблі промивки капіляра націлене на встановлення осмотичної рівноваги поверхневих і глибоких шарів поверхні капіляру після отриманого шоку та його адаптацію до роботи в умовах аналогічного буфера. Зменшення тривалості промивки на цьому етапі не доцільне, оскільки погіршує нейтралізацію наслідків осмотичного шоку. Збільшення тривалості режимів промивки капіляра відносно пропонованих також не доцільне, оскільки знижує продуктивність промивки, хоча може й посилити ефективність регенеративних процесів у капілярі. У наданому обсязі заявлене технічне рішення збільшує продуктивність промивки більше ніж у 9-10 разів, у порівнянні з прототипом.

Інші переваги даного способу зв'язуються з

покращенням умов відтворення капілярного електрофорефу та отриманням достовірних даних.

Тож, сукупність ознак корисної моделі є суттєвою та відповідає критерію «новизна», оскільки, має причинно-наслідковий зв'язок з отриманням вищезазначеного технічного результату і не впливає з досліджуваного рівня техніки явним чином.

На Фіг.1, 2 зображені електрофореграми проби валеріанової настойки, отримані в умовах капілярного електрофорефу, за умов регенерації капіляра у відповідності з прототипом і пропонованим рішенням задачі.

Відомості, що підтверджують можливість здійснення способу регенерації капіляра для електрофорефу полягають у наступному.

Спосіб регенерації капіляра для електрофорефу включає послідовну промивку його порожнини на I етапі водою дистильованою на протязі 2 хвилин, на II етапі - розчином натрію гідроксиду, взятим у концентрації $1,0 \text{ моль/дм}^3$, на III етапі - водою дистильованою на протязі 3 хвилин, на IV етапі - робочим буферним розчином на протязі 5 хвилин.

Приклад. Для здійснення способу залучали кварцовий капіляр $\varnothing 75 \text{ мкм}$ з довжиною 600мм (для електрофоретичної системи «Капель-103Р», РФ), розчин натрію гідроксиду ($1,0 \text{ моль/дм}^3$), воду дистильовану (ГОСТ 6709-72) і тетраборатний буферний розчин, що був залучений для дослідження якості валеріанової настойки.

Спосіб регенерації капіляра для електрофорефу включає послідовну промивку його порожнини на I етапі водою дистильованою на протязі 2 хвилин, на II етапі - розчином натрію гідроксиду, взятим у концентрації $1,0 \text{ моль/дм}^3$, на III етапі - водою дистильованою на протязі 3 хвилин, на IV етапі - тетраборатним буфером на протязі 5 хвилин. Порівняння результатів промивки капіляру з прототипом свідчило про те, що заявлене технічне рішення збільшує її продуктивність, більше ніж у 9-10 разів, покращує умови відтворення капілярного електрофорефу й знижує спотворення шуканих результатів.

Отже, використання заявленого технічного рішення задачі в хімічно-лабораторній практиці дозволяє перевершити технічний результат за показником збільшення продуктивності, що відповідає умові «промислова придатність». Значущість об'єкта поширюється у зв'язку з ростом актуальності проблем в області аналізу органічних речовин, пігментів, барвників, білків, пептидів, фармпрепаратів, харчових продуктів, напоїв, наркотиків тощо, зв'язаних з технологічним контролем виробництва, вхідним контролем сировини у промисловості, криміналістиці, медицині, біохімії, генетиці тощо. Характеристика об'єкта, що зазначена у незалежному формулі, визначає межі його правового статусу, забезпечує відрізнєння від об'єктів аналогічного призначення, а з урахуванням п.2 Ст.7 Закону і доводів заявника, дозволяє кваліфікувати його корисною моделлю.

Аналог:

1. Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовой концентрации катионов цезия, калия, лития, магния, кальция, стронция, бария в пробах питьевых, при-



УКРАЇНА

(19) UA (11) 26919 (13) U

(51) МПК (2006)

G01N 30/00

G01N 33/15

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЗАСТОСУВАННЯ СПОСОБУ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ СЕЛЕНУ У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ ЯК СПОСОБУ ОЦІНКИ ЯКОСТІ НАСТОЯНКИ ГЛОДУ

1

(21) u200706114

(22) 04.06.2007

(24) 10.10.2007

(72) ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, UA,
ВЯТКІН ОЛЕКСАНДР КОСТЯНТИНОВИЧ, UA,
ГЕОРГІЄВСЬКИЙ ВІКТОР ПЕТРОВИЧ, UA,
КАЧАНОВ СЕРГІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, UA,
КОШЕЛЄВ ОЛЕГ СТАНІСЛАВОВИЧ, UA

2

(73) ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, UA,
ВЯТКІН ОЛЕКСАНДР КОСТЯНТИНОВИЧ, UA,
ГЕОРГІЄВСЬКИЙ ВІКТОР ПЕТРОВИЧ, UA,
КАЧАНОВ СЕРГІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, UA,
КОШЕЛЄВ ОЛЕГ СТАНІСЛАВОВИЧ, UA

(56)

(57) Застосування способу визначення
концентрації селену у водному розчині як способу
оцінки якості настоянки глоду.

Корисна модель відноситься до досліджень або аналізу матеріалів шляхом розділення їх умісту на складові частини, досліджень лікарських форм медичних препаратів, одержуваних шляхом витягу діючих компонентів з лікарської сировини, та може бути використаною у фармацевтичних, хімічних і медичних лабораторіях.

З досліджуваного рівня техніки відомо застосування способу визначення складу лікарської форми, що включає регенерацію інгредієнтів проби у фосфатному буфері, виготовленому на основі метанолу, градієнте розділення інгредієнтів рідини і трикратне визначення їхньої концентрації шляхом хроматографічного дослідження [1]. Застосування способу поширено, здебільше, на дослідження концентрації вітамінів у складних формах фармацевтичних препаратів, але спроби використати його властивості у сфері досліджень вмісту розчинів і настоянок призводили до їх незатребуваності й непридатності до кількісно-якісного аналізу препаратів, вміст котрих не утримував складових вітамінного походження. Одержання негативних результатів при дослідженні активних компонентів решти лікарських форм і настоянок, у вигляді викривлення значень кількісного вмісту, у цей спосіб цілком зумовлене електролітичною специфічністю й складом хроматографічної основи, що перешкоджає можливості оптимальної поляризації та екстракції їхніх компонентів, викривляє ідентифікацію, відображення кількісно-якісних відбитків, внаслідок неадекватного

детектування досліджуваних компонентів у відведеному діапазоні аналізатора.

В основу дійсної корисної моделі поставлена задача створити такий спосіб оцінки якості настоянки глоду, застосування якого дозволило б шляхом використання відомого об'єкта за новим призначенням підвищити рівні поляризації, екстракції компонентів і збільшити чутливість аналізатора до активних речовин в умовах капілярного електрофорезу.

Вищезазначений технічний результат досягається застосуванням способу визначення концентрації селену у водному розчині [2], вперше, як способу оцінки якості настоянки глоду, що відповідає критерію «новизна».

На Фіг. 1, 2 зображені електрофореграми проб настоянки глоду зі спектром піків і часом виходу компонентів її умісту.

Для здійснення способу оцінки якості настоянки глоду залучають установку «Капель-103РТ» для капілярного електрофорезу (виробництва НПФ «Люмекс», Росія), оксид хрому ($0,025 \text{мол/дм}^3$), діетанолалін ($0,05 \text{мол/дм}^3$), розчин ЦТАБ ($3,0 \text{мг/дм}^3$), воду дистильовану (ГОСТ 6709 - 72), комп'ютер і програмне забезпечення «Мультихром» (Росія).

На основі 2см^3 оксиду хрому, 4см^3 діетанолаліну, 2см^3 розчину цетилтриметіл амонія броміду (ЦТАБ), узятих при молярних концентраціях $0,025 \text{мол/дм}^3$, $0,05 \text{мол/дм}^3$ і 3мг/дм^3 , відповідно, та 2см^3 води дистильованої виготовляють буферну суміш.

Розділення на складові та ідентифікацію вмісту проби настоянки глоду здійснюють за допомогою установки «Капель-103РТ». На довжині хвилі аналізатора 254нм реєструють УФ поглинання діючих речовин в настійці, обробляють оптичну щільність останніх, отримують графічний відбиток, у вигляді електрофореграми зі спектром піків. Частота, час виходу й амплітуда сигналів компонентів проби визначають площі піків, підраховувані програмним забезпеченням «Мульті-ром», а відтак характеризують кількісно-якісний уміст настоянки глоду. Завдяки збільшенню потенціалів поляризованих іонів речовин настоянки глоду, екстракції компонентів, чутливості аналізатора до активних речовин глоду в умовах капілярного електрофорезу збільшується тривалість експозиції останніх між періодами утримання в екстрагенті й можливість повноцінної ідентифікації. Чутливість детектування підвищується у 1,6-1,75 рази та виключається спотворення кількісно-якісної оцінки екстракту діючих речовин. Відбиток контрольно-зразкової проби настоянки глоду може бути роздрукований на прозорий носій і використатися у подальшому як контрольна палетка під час стандартизації випуску настоянок (встановлення лікувальної цінності, термінів визрівання) або відрізнєння від підробки.

Приклад. Буферну суміш отримували шляхом змішування $2,0\text{см}^3$ оксиду хрому, $4,0\text{см}^3$ діетаноламіну, $2,0\text{см}^3$ розчину ЦТАБ (3мг/дм^3) та 2см^3 води дистильованої.

Ідентифікацію та розділення її вмісту на складові здійснювали в умовах капілярного електрофорезу, із застосуванням устаткування «Капель-103РТ», дотримуючись технологічного режиму капілярного електрофорезу: напруження - 10кВ , тривалість аналізу - 13хв , час введення проби - 5сек . Під впливом електрофоретичного потоку іони речовин настоянки глоду мігрували крізь капіляр до аноду, завдяки взаємодії із зарядженими молекулами форетичного середовища. За допомогою детектора ідентифікували та реєстрували оптичну щільність діючих компонентів настоянки глоду на довжині хвилі аналізатора 254нм. За допомогою програми «Мультіром» перетворювали геометричні параметри піків (електричних імпульсів) наявних діючих речовин в настійці глоду у цифрові показники та визначали їх кількісний вміст у пробі. Час виходу речовин настоянки глоду та амплітуди імпульсів, у залежності від концентрації кожного з компонентів, свідчили про технологічно сприйнятливу чутливість засобу детектування. За даними площ піків електрофореграми визначали концентрації досліджуємих речовин, формували висновки, щодо відповідності вимогам якості та можливості її застосування у лікуванні.

На Фіг. 1 наведено капілярну електрофореграму настійки глоду, з якої видно, що основний комплекс піків виходить на 7-10 хвилинах і в подальшому сталих піків не спостерігається. І в цьому комплексі, міститься пік, що відбиває вміст гіперозиду в глоді, як основного представника біофлавоноїдів (пік №2). На Фіг. 2

наведено ідентифікацію гіперозиду. В цьому випадку перед проведенням капілярно-електрофоретичного аналізу до вивчаємої настоянки було додано спиртовий розчин гіперозиду при концентрації 12мг/дм^3 . Внаслідок цього істотно зросла площа піку №2. Таким чином, можна прийти до висновку, що пік №2 дійсно відбиває вміст гіперозиду в настійці глоду, який являє собою основний представник біофлавоноїдів цієї рослини.

Відбиток конкретних проб настоянок глоду (Фіг.1, 2) за часом виходу та умовними площинами піків її активних речовин дозволяє встановити відповідність настоянки нормативній якості за результатом аналізу її кількісно-якісного умісту.

Практична значущість дійсної корисної моделі, у порівнянні з хроматографічним шляхом розділення складових вмісту рідини на складові частини, зв'язується з можливістю кількісно-якісного аналізу настоянки глоду, попередженням застосування недоброякісних настоянок глоду, покращенням результатів лікування та розширенням меж переважного використання базового об'єкта. За умов капілярного електрофорезу збільшується чутливість детектування компонентів настійки глоду, майже у 1,6-1,75 рази.

Наданий приклад конкретного використання доводить можливість застосування раніш відомого способу за новим призначенням, з перевершенням вищезазначеного технічного результату в умовах фармацевтичних, хімічних і медичних лабораторій, що відповідає умові «промислова придатність».

Тож, характеристика об'єкта, що зазначена у незалежному пункті формули, визначає межі його правового статусу, забезпечує відрізнєння від об'єктів аналогічного призначення, а з урахуванням п.2 Ст.7 Закону і доводів заявника, дозволяє кваліфікувати його корисною моделлю.

Аналоги:

1. Способ определения состава лекарственной формы: Заявка 97106926 России, МПК G01N33/52 / Т.С.Малолеткина (Россия). - №97106926/14; заявл. 25.04.97; опубл. 20.04.99.
2. Спосіб визначення концентрації селену у водному розчині: Пат. №15461 України, МПК: G01N 30/00 / Дроздов О.Л., Білецька Е.М., Качанов С.О., Кошелев О.С., Вяткін О.К., Рудько А.М. (Україна). - №u00507645; заявл. 01.08.04; опубл. 17.07.06.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 29952 (13) U
(51) МПК (2006)
A61B 5/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ НЕЙРОХІМІЧНОЇ ОЦІНКИ СПРИЙНЯТТЯ НЕВІДОМИХ АВЕРСИВНИХ ПОДРАЗНИКІВ

1

(21) u200701629

(22) 16.02.2007

(24) 11.02.2008

(72) ВЯТКІН ОЛЕКСАНДР КОСТЯНТИНОВИЧ, UA,
ДЗЯК ЛЮДМИЛА АНТОНІВНА, UA, ДРОЗДОВ
ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, UA, КАЧАНОВ СЕРГІЙ
ОЛЕКСАНДРОВИЧ, UA, КОШЕЛЄВ ОЛЕГ СТАНІ-
СЛАВОВИЧ, UA, ШПОНЬКА ІГОР СТАНІСЛАВО-
ВИЧ, UA(73) ВЯТКІН ОЛЕКСАНДР КОСТЯНТИНОВИЧ, UA,
ДЗЯК ЛЮДМИЛА АНТОНІВНА, UA, ДРОЗДОВ
ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, UA, КАЧАНОВ СЕРГІЙ
ОЛЕКСАНДРОВИЧ, UA, КОШЕЛЄВ ОЛЕГ СТАНІ-
СЛАВОВИЧ, UA, ШПОНЬКА ІГОР СТАНІСЛАВО-
ВИЧ, UA

2

(57) 1. Спосіб нейрохімічної оцінки сприйняття не-
відомих аверсивних подразників, що включає
створення умовної реакції за рахунок впливу світ-
ловим й електричним подразниками, дослідження
проникності мембран лізосом великих півкуль моз-
ку і реєстрацію зміни експресії лізосомного цистеї-
нового катепсину Н в структурах головного мозку,
який відрізняється тим, що додатково досліджу-
ють тканини медіальної частини таламуса і визна-
чають у них ферментативну активність лізосомаль-
них цистеїнових катепсинів В і L.2. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що ви-
значення ферментативної активності лізосомаль-
них цистеїнових катепсинів В і L здійснюються на 3,
7, 14 і 21 дні після впливу подразниками.

Корисна модель відноситься до медицини, насамперед до визначення, вимірів або реєстрації параметрів з діагностичною ціллю, здебільше, здобутих на основі виклику відповідних реакцій і може бути використаною в теоретичній або клінічній психології, нейрофізіології, нейрохімії, невропатології тощо.

Відомий спосіб оцінки невідомих подразників у щурів, що включає визначення змін рухливості за результатом візуальної реєстрації та вимірювань кількості рухів в камері актометра [1]. Але властивості даної методики характеризуються замалою вірогідністю оцінки аверсивних (біологічно істотних) подразників і труднощами, що зв'язуються з їхнім отриманням в термін понад 24 години. Це пояснюється відсутністю кількісних параметрів, внаслідок візуалізації компонентів рухливості, й неможливістю безперервного підрахунку кількості рухів на протязі 2-3 тижнів, тобто в терміни, коли відбувається втрата невідомих подразників аверсивного походження. Поряд із цим, визначення кількості рухів в камері актометра віддаляє тварину від впливу нових подразників, а порожнина камери стає аверсивним фактором, до якого формується звичка.

Деяке збільшення вірогідності результатів нейрохімічної оцінки невідомих аверсивних подразників можливе за рахунок визначення експресії

глікопротеїду NCAM (Neural Cell Adhesion Molecule), кислої фосфатази, РНК-ази, як кількісних показників вищої нервової діяльності піддослідних тварин, після їх навчання [2]. Зміна експресії вказаних субстратів набуває інформативного значення за рахунок кореляції процесів структурного синаптичного ремоделювання та аксонального зростання пам'яті з характером перемін поведінки тварини, а також можливості ототожнення окремих утворень головного мозку в процесі формування умовно-рефлекторних реакцій у кількісному вигляді. Однак, відсутність уявлень, щодо реакції лізосом великих півкуль мозку залишає вірогідність оцінки аверсивних подразників невисокою.

Найбільш близьким серед об'єктів аналогічного призначення за сукупністю ознак є спосіб нейрохімічної оцінки сприйняття невідомих аверсивних подразників, що включає утворення умовної реакції за рахунок впливу світловим й електричним подразниками, а також дослідження проникності мембран лізосом великих півкуль мозку по зміні експресії лізосомного цистеїнового катепсину Н у фронтальній корі, смугастому тілі, гіпокампі й інших структурах головного мозку [3]. Використання лізосомального ферменту сприяє реєстрації фактів реорганізації пам'яті за рахунок проникності мембран лізосом мозку (змін активності катепсину Н) під час навчання тварини, що підвищує чутли-

вість до сприйняття збудження аверсивними світловим і електричним подразниками. Але на погляд заявника, резерви підвищення вірогідності кінцевого результату залишилися не вичерпаними ($p < 0,8$), з-поміж відсутності даних про стан морфозу центральної нервової системи, від периферійних рецепторів до кори великих півкуль мозку.

В основу корисної моделі поставлено задачу вдосконалити спосіб нейрохімічної оцінки сприйняття невідомих аверсивних подразників, який шляхом залучення утворень центральної нервової системи, чутливих до імпульсів формування пам'яті, сприятиме покращенню інформативності та вірогідності кінцевого результату ($p > 0,9$) при використанні.

Вищезазначений технічний результат при здійсненні корисної моделі досягається тим, що у відомому способі нейрохімічної оцінки сприйняття невідомих аверсивних подразників, що включає утворення умовної реакції за рахунок впливу світловим й електричним подразниками, дослідження проникності мембран лізосом великих півкуль мозку і реєстрацію зміни експресії лізосомного цистеїнового катепсину Н в структурах головного мозку, у відповідності з корисною моделлю, додатково досліджують тканини медіальної частини таламуса і визначають в них ферментативну активність лізосомальних цистеїнових катепсинів В і L; за умов, що визначення ферментативної активності лізосомальних цистеїнових катепсинів В і L здійснюють на 3, 7, 14 і 21 дні після впливу подразників.

Причинно-наслідковий зв'язок сукупності відмітних ознак з вищезазначеним технічним результатом полягає в тому, що залучення тканин медіальної частини таламуса дозволяє розширити уявлення про стан морфозу центральної нервової системи, від периферійних рецепторів до кори великих півкуль мозку. Визначення в них ферментативної активності лізосомальних цистеїнових катепсинів В і L розширює інформацію про зміну проникності їхніх мембран, як сенсорів формування пам'яті, в умовах збудження аверсивними подразниками. Вимір ферментативної активності лізосомальних цистеїнових катепсинів В і L в тканинах медіального таламуса, особливо, при звиканні до повторної дії аверсивними подразниками, дозволяє більш компетентно визначити характер змін проникності мембран лізосом. Це зумовлене генетично детермінованими особливостями хімічної будови катепсинів В і L, їхнім рецепторно-залежним характером накопичення в лізосомах і локалізацією катепсину В як в лізосомах, так і клітинному матриксі. Поряд із цим, можливості збереження катепсину L у зв'язаному стані з інгібітором і швидкого реагування на невідомі аверсивні подразники дозволяє покращити інформативність та вірогідність кінцевого результату ($p > 0,9$), оскільки зміна активності катепсинів Н і В залежить, здебільше, від експресії.

Ознака, щодо реєстрації змін ферментативної активності лізосомальних цистеїнових катепсинів В і L на 3, 7, 14 і 21 дні після впливу подразниками позбавлена самостійної правової охорони, але зв'язується з аверсивним значенням пропонуваного періоду і забезпечує досягнення максимального технічного результату.

Тож, сукупність ознак корисної моделі є суттєвою та відповідає критерію «новизна», оскільки, має причинно-наслідковий зв'язок з отриманням вищезазначеного технічного результату та не впливає з досліджуваного рівня техніки явним чином.

Відомості, які підтверджують можливість здійснення корисної моделі полягають у наступному.

Для здійснення способу нейрохімічної оцінки сприйняття невідомих аверсивних подразників залучають актометр, спектрофотометр, зразки тканин великих півкуль, медіальної частини таламуса, фронтальної зони неокортексу, гіпокампа, Варолієвого моста та смугастого тіла мозку білих статевозрілих щурів. Вміст катепсину Н здійснюють за допомогою гідролізату 2-нафіламіду L-лейцину («Koch Light Laboratories», GB) і гомогенатів («Sigma», US), а визначення ферментативної активності лізосомальних цистеїнових катепсинів В і L - за рахунок використання N^+ -бензоїл-D, L-аргініну (БАПА) ("Fluka", Швейцарія).

Сутність способу нейрохімічної оцінки сприйняття невідомих аверсивних подразників полягає в утворенні умовної реакції за рахунок впливу світловим й електричним аверсивними подразниками, дослідження проникності мембран лізосом великих півкуль мозку і реєстрацію зміни експресії лізосомного цистеїнового катепсину Н в структурах головного мозку, наприклад, у тканинах фронтальної зони неокортексу, гіпокампа, Варолієвого моста, медіального таламуса та смугастого тіла, за умов прототипу. Для збільшення інформативності та вірогідності кінцевого результату ($p > 0,9$) додатково досліджують тканини медіальної частини таламуса і визначають в них ферментативну активність лізосомальних цистеїнових катепсинів В і L, на 3, 7, 14 і 21 дні після впливу подразниками.

Для перевірки інформативності способу та прийнятної вірогідності кінцевого результату ($p > 0,9$) був проведений експеримент, результати якого наведені в таблиці, що додається.

Встановлено, що в медіальній частині таламуса щурів при виробленні УРАУ відзначались вірогідні зміни рівнів вільної активності катепсинів В і L з третьої доби навчання, а катепсину Н з 7-ої, що свідчить про зміни стабільності мембран лізосом у досліджуваній структурі головного мозку дослідних щурів [3]. Тенденція підвищення загальної активності відзначалась лише для катепсину L. Динаміка зниження загальної активності встановлена для катепсинів В і Н, які наряду з ендопептидазною активністю, володіють ще й карбокситамино-екзопептидазними активностями відповідно. Порівняння рівня активності цистеїнових катепсинів В, L і Н в розчинній та вибраній фракції медіального таламуса інформувало про цілеспрямований характер динаміки змін в залежності від терміну вироблення умовно-рефлекторної навички.

Отже збільшення вільної активності катепсину В на 14 добу в 1,8 разу, а Н в 3,4 рази на 21 добу інформує про підвищення проникності мембран лізосом у медіальній частині таламуса при виробленні УРАУ у щурів, а значне підвищення загальної активності катепсину L у всі терміни навчання

може свідчити про стимуляцію експресії, даного ферментного білка. Пропонований спосіб нейрохімічної оцінки формування УРАУ у тварин може бути корисним, бо ґрунтується на залученні структури головного мозку, що об'єктивно пов'язано не тільки з процесами навчання і формування пам'ятного сліду, але й оцінки невідомих аверсивних подразників, а його використання в нейрофізіології, нейрохімії, невропатології та клінічній психології, може забезпечити більш достовірні дослідження при використанні меншої кількості тварин.

Таким чином, вплив аверсивними подразниками на тварину викликає підвищення вільної активності лізосомальних цистеїнових катепсинів В і L, що призводить до збільшення проникності мем-

бран лізосом мозку, при цьому дослідження тканин медіальної частини таламуса сприяє отриманню більш вірогідного кінцевого результату ($p > 0,9$) та посиленню інформативності. На цій основі пропонується технічне може бути корисним в психології, нейрофізіології, нейрохімії, невропатології тощо, як таке, що демонструє практичну здатність до оцінки таких структур головного мозку тварини, які об'єктивно відповідають за формування пам'ятного сліду у лабораторних тварин, що відповідає критерію «промислової придатності», що з урахуванням п.2 Ст.7 Закону й вищенаданих доводів дозволяє кваліфікувати пропонуване рішення за задачі корисною моделлю процесу.

Таблиця 1

Вільна активність катепсинів В, L, Н в медіальному таламусі щурів за умов умовної реакції активного уникнення ($M \pm m$), $n=8$

Медіальний таламус	Контроль	3 доба	7 доба	14 доба	21 доба
Катепсин В	0,055 \pm 0,004	0,034* \pm 0,002	0,035** \pm 0,001	0,099*** \pm 0,008	0,015*** \pm 0,001
Катепсин L	0,055 \pm 0,004	0,033** \pm 0,002	0,043* \pm 0,002	0,057 \pm 0,002	0,040* \pm 0,002
Катепсин Н	0,021 \pm 0,002	0,019 \pm 0,002	0,016* \pm 0,001	0,024 \pm 0,001	0,072* \pm 0,006

Примітки: * $<0,05$ при порівнянні з контролем.

Аналоги:

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа, 1991. -236с.

2. Дроздов О.Л., Лещинська І.О., Кошелєв О.С., Чорна В.І. Вміст молекули клітинної адгезії NCAM в структурах головного мозку щурів при відтворенні умовної реакції пасивного уникнення //Neurophysiology-1999. -Vol.131. -№1. - С.73-75.



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **33984** (13) **U**

(51) МПК (2006)

A61B 5/145

G01N 33/53

G01N 33/554

G01N 33/50

C12Q 1/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ФАГОЦИТАРНОЇ АКТИВНОСТІ НЕЙТРОФІЛІВ

1

2

(21) u200801385

(22) 04.02.2008

(46) 25.07.2008, Бюл.№ 14, 2008 р.

(72) ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, UA, ДЗЯК
ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, UA, КОШЕЛЄВ ОЛЕГ
СТАНІСЛАВОВИЧ, UA, АВРАМЕНКО ЛЮБОВ МИ-
КОЛАЇВНА, UA

(73) ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, UA, ДЗЯК
ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, UA, КОШЕЛЄВ ОЛЕГ
СТАНІСЛАВОВИЧ, UA, АВРАМЕНКО ЛЮБОВ МИ-
КОЛАЇВНА, UA

(57) Спосіб визначення фагоцитарної активності
нейтрофілів, що включає ліофілізацію свіжих дріжджів *Sachfromyces cereevisiae* при T 100°C, витримку їх у киплячій водянній бані протягом 60хв, відмивання у буферному розчині, з доведенням рН до 7,2-7,4, розведення дріжджів *Sachfromyces cereevisiae* 0,9% розчином NaCl, при співвідношенні об'ємів 1:5, відбір проби периферичної крові, добавку до її необхідної кількості розведених дріжджів *Sachfromyces cereevisiae*, інкубацію сумі-

ші при заданій T°C протягом 30хв., формування мазків на предметних стеклах, сушіння, фіксацію етанолом'96, забарвлення фарбою Гимза-Романівського та мікроскопіювання, виявлення в полі зору мікроскопа 100 нейтрофілів, визначення відсотка резорбції *Sachfromyces cereevisiae* нейтрофілами, середнього числа їх поглинання кожним фагоцитом і оцінку стану фагоцитарної активності нейтрофілів на їхній основі, який **відрізняється** тим, що додатково до 3мл досліджуваної крові послідовно додають 0,2мл гепарину і 0,05мл суспензії дріжджів *Sachfromyces cereevisiae*, інкубацію суміші здійснюють при T 37°C, в умовах струшування через кожні 5хв, а перед формуванням мазків її прохолоджують проточною водою та центрифугують зі швидкістю 1500 об/хв протягом 5-7хв, видаляють надосадову рідину, ресуспензують осад, відбирають 0,2мл від залишку і доводять в ньому співвідношення клітин дріжджів і фагоцитів до 10:1.

Корисна модель відноситься до медицини, зокрема, до виміру характеристик крові, дослідження чи аналізу матеріалів особливими способами, імунологічному аналізу, аналізу біоспецифічного зв'язування й використання матеріалів для цього, дослідження, заснованому на використанні носія, що являє собою біологічну клітину або її частину, наприклад, бактерії або дріжджові клітини, вивчення біологічного матеріалу шляхом *in vitro*, переважно крові, її хімічного аналізу, способів виміру або випробування на основі ферментів, мікроорганізмів або препаратів, котрі утримують дріжджі, застосування мікроорганізмів, визначення, вимірів або реєстрації даних з діагностичною ціллю та може бути використаною в лабораторній діагностиці, насамперед, при оцінці імунного статусу людини.

Відомий спосіб визначення фагоцитарної активності нейтрофілів, що включає відбір проби

периферичної крові, добавку необхідної кількості стафілокока штаму 209, як живої однокленної тест-культури мікробного походження, інкубацію суміші при кімнатній T°C на протязі 30хв, формування мазків отриманої суспензії на предметних стеклах, сушіння, їх фіксацію етанолом' 96, забарвлення фарбою Гимза-Романівського, мікроскопіювання мазка, виявлення в полі зору мікроскопа 100 нейтрофілів, визначення в них відсотка поглинання клітин стафілокока штаму 209 і середнього числа їх поглинання 1 фагоцитом, фагоцитарної активності поліморфноядерних лейкоцитів і моноцитів [1]. Визначення стану фагоцитарної активності нейтрофілів периферичної крові шляхом *in vitro* ґрунтується на здатності нейтрофілів зв'язувати на власній поверхні, поглинати та перетравлювати мікробну тест-культуру. Проте наданому аналогу бракує прийнятної технологічності та економічності

ті, адже використання стафілококу штаму 209, як живої однокорисної тест-культури мікробного походження, вимагає ретельних умов стерилізації відпрацьованого матеріалу, виготовлення та зберігання використаної тест-культури, застосування дороговартісного обладнання, автоклавів тощо та інших витрат, а залучення однокорисної тест-культури суттєво стримує її лабораторну придатність, внаслідок обмеженого життєвого циклу.

Найбільш близьким за сукупністю істотних ознак серед об'єктів аналогічного призначення до дійсної корисної моделі є спосіб визначення фагоцитарної активності нейтрофілів, що включає ліофілізацію свіжих дріжджів *Sachfromyces cereevisiae*, як тест-культури, при $T\ 100^{\circ}\text{C}$, витримку у киплячій водянній бані на протязі 60хв, відмивання у буферному розчині з доведенням до 7,2-7,4 рН, розведення 0,9% розчином NaCl, при співвідношенні об'ємів 1:5, відбір проби периферичної крові, добавку до її необхідної кількості 1мл середовища Ігла (2×10^6), 10% розчину сироватки зародка корови, 100мл розведених дріжджів *Sachfromyces cereevisiae*, інкубацію цієї суспензії при кімнатній $T^{\circ}\text{C}$ протягом 30хв, формування мазків на предметних стеклах, сушку, фіксацію етанолом '96, забарвлення фарбою Гимза-Романівського, їх мікроскопіювання, виявлення в полі зору мікроскопа 100 нейтрофілів, визначення відсотка резорбції *Sachfromyces cereevisiae* нейтрофілами, середнього числа їх поглинання 1 фагоцитом і оцінку стану фагоцитарної активності нейтрофілів на їхній основі [2]. Виведення стафілококу штаму 209, як живої однокорисної тест-культури мікробного походження, з фагоцитозу, а разом із цим, і дороговартісного обладнання, дещо покращує технологічні властивості прототипу, а також дозволяє реалізувати як економічні, так і певні експлуатаційні переваги. Це зумовлене можливістю довготривалого зберігання *Sachfromyces cereevisiae*, за умов їх ліофілізації, стерилізації та кислотної нейтралізації. Натомість ліофілізація дріжджів дозволяє відтворювати дослідження фагоцитарної активності нейтрофілів в лабораторіях, котрі позбавлені спеціального устаткування для стерилізації відпрацьованого матеріалу. Але, економічні й технологічні властивості прототипу ще залишаються недосконалими, з-поза використання середовища Ігла та сироватки зародка корови, як дороговартісних реактивів, а також надмірно тривалого терміну підготовки мазків до дослідження, що, поряд з підвищеними вимогами до зберігання та стерилізації реактивів, ускладнює дослідження фагоцитарної активності нейтрофілів.

До основи корисної моделі поставлено задачу вдосконалити спосіб визначення фагоцитарної активності нейтрофілів периферичної крові, застосування котрого дозволило б шляхом доопрацювання режиму інкубації дріжджів *Sachfromyces cereevisiae* покращити економічні та технологічні властивості процесу.

Поставлена задача вирішується тим, що при використанні у відомому способі визначення фагоцитарної активності нейтрофілів, що включає ліофілізацію свіжих дріжджів *Sachfromyces cereevisiae* при $T\ 100^{\circ}\text{C}$, витримку їх у киплячій

водянній бані на протязі 60хв, відмивання у буферному розчині, з доведенням рН до 7,2-7,4, розведення дріжджів *Sachfromyces cereevisiae* 0,9% розчином NaCl, при співвідношенні об'ємів 1:5, відбір проби периферичної крові, добавку до її необхідної кількості розведених дріжджів *Sachfromyces cereevisiae*, інкубацію суміші при заданій $T^{\circ}\text{C}$ на протязі 30хв, формування мазків на предметних стеклах, сушіння, фіксацію етанолом '96, забарвлення фарбою Гимза-Романівського та мікроскопіювання, виявлення в полі зору мікроскопа 100 нейтрофілів, визначення відсотка резорбції *Sachfromyces cereevisiae* нейтрофілами, середнього числа їх поглинання кожним фагоцитом і оцінку стану фагоцитарної активності нейтрофілів на їхній основі, відповідно до корисної моделі, додатково до 3мл досліджуваної крові послідовно додають 0,2мл гепарину і 0,05мл суспензії дріжджів *Sachfromyces cereevisiae*, інкубацію суміші здійснюють при $T\ 37^{\circ}\text{C}$, в умовах струшування через кожні 5хв, а перед формуванням мазків її прохолоджують проточною водою та центрифугують зі швидкістю 1500об/хв на протязі 5-7хв, видаляють надосадову рідину, ресуспензують осад, відбирають 0,2мл від залишку і доводять в ньому співвідношення клітин дріжджів і фагоцитів до 10:1.

Причинно-наслідковий зв'язок сукупності відмітних ознак дійсного способу з покращенням економічних і технологічних властивостей процесу полягає в наступному.

Доопрацювання режиму інкубації *Sachfromyces cereevisiae* націлене на виключення з використання середовища Ігла та сироватки зародка корови, як дороговартісних реактивів, і скорочення терміну підготовки мазків до дослідження фагоцитарної активності нейтрофілів.

Послідовне додавання до 3мл досліджуваної крові 0,2мл гепарину і 0,05мл суспензії дріжджів *Sachfromyces cereevisiae* до досліджуваної крові скорочує термін і процедуру підготовки мікрофагів до реакції фагоцитозу. Інкубація суміші при $T\ 37^{\circ}\text{C}$, за умов її струшування через кожні 5хв зберігає реакцію мазків, а її охолодження проточною водою та центрифугування зі швидкістю 1500об/хв на протязі 5-7хв дозволяють відділити лейкоцити від сироватки та зберегти фагоцитарну активність нейтрофілів, а разом із цим, виключити застосування додаткових промоторів реакції. Водночас, це збільшує термін зберігання препарату до 12 місяців, що, з урахуванням складності його підготовки та стерилізації, сприяє перевершенню економічних і технологічних властивостей прототипу. Видалення надосадової рідини та її ресуспензування зумовлює підготовку 0,2мл лейкоцитарної маси, як оптимально інформативної кількості, до оцінки фагоцитарної активності нейтрофілів. Доведення 0,2мл аналізу до співвідношення 10:1 клітин дріжджів і фагоцитів забезпечує оптимальну редукцію залишкового осаду, з можливістю диференційованої оцінки активності нейтрофілів у порівнянні різних проб, без застосування зайвих промоторів або інгібіторів реакції.

Сукупність ознак запропонованого рішення задачі дозволяє виключити експлуатацію дороговартісного обладнання, живих мікробних тест-культур,

реагентів, таких як середовище Ігла та 10% сироватка зародка корови, зі зниженням собівартості дослідження у 5-6 разів. Додаткова перевага над прототипом зв'язується з можливістю використання способу в лабораторіях, котрі позбавлені умов для стерилізації відпрацьованого матеріалу чи залученого обладнання, з технологічним спрощенням визначення фагоцитарного числа і фагоцитарного індексу периферичної крові.

Тож, сукупність ознак способу визначення фагоцитарної активності нейтрофілів є суттєвою та відповідає критерію «новизна», оскільки має причинно-наслідковий зв'язок з переверненням технічного результату та не випливає з досліджуваного рівня техніки явним чином, відповідно.

Відомості, котрі підтверджують можливість відтворення дійсного способу та його «промислової придатності» полягають в наступному.

Для визначення фагоцитарної активності нейтрофілів залучають проби периферичної крові, свіжі ліофілізовані дріжджі *Sachfromyces cereevisiae*, гепарин 1250д, 0,9% розчин NaCl, етанол 96%, фарбу Гимза-Романівського, лабораторний термостат ТПС, флюорометр МФТХ-2М і центрифугу зі швидкістю обертання 1500об/хв.

Сутність способу визначення фагоцитарної активності нейтрофілів полягає в тім, що для здійснення процесу залучають ліофілізовані при Т 100С° свіжі дріжджі *Sachfromyces cereevisiae*, що витримані у киплячій водянній бані на протязі 60хв, відмиті у буферному розчині й доведені до 7,2-7,4 рН. Надалі *Sachfromyces cereevisiae* розводять 0,9% розчином NaCl, при співвідношенні об'ємів 1:5. Для відтворення реакції фагоцитозу до 3мл досліджуваної крові послідовно додають 0,2мл гепарину і 0,05мл суспензії *Sachfromyces cereevisiae*. Інкубацію отриманої суміші здійснюють при Т 37°С на протязі 30хв. В період інкубації суміш піддають струшуванню через кожні 5хв, а перед формуванням мазків - прохолоджують у проточній воді і центрифугують зі швидкістю обертання 1500об/хв на протязі 5-7хв. Потім видаляють надосадову рідину, ресуспензують осад у залишку, доводячи співвідношення клітин дріжджів і фагоцитів до 10:1 у 0,2мл вихідної суспензії і формують мазки на предметних стеклах, піддаючи їх природній сушці, фіксації етанолом'96 і забарвленню фарбою Гимза-Романівського. При мікроскопіюванні мазка в полі зору мікроскопа виявляють 100 нейтрофілів, визначають серед них

відсоток поглинання *Sachfromyces cereevisiae*, середнє число їх поглинання кожним фагоцитом і оцінюють фагоцитарну активність нейтрофілів.

Приклад постановки фагоцитозу. Свіжі дріжджі *Sachfromyces cereevisiae* піддавали ліофілізації при Т 100°С, витримували їх у киплячій водянній бані на протязі 60хв, відмивали буфером, доводячи рН до 7,3, розводили 0,9% розчином NaCl, при співвідношенні об'ємів 1:5. Надалі у центрифужну пробірку з 3мл досліджуваної крові послідовно додавали 0,2мл гепарину і 0,05мл суспензії *Sachfromyces cereevisiae*. Інкубацію суміші здійснювали при Т 37°С на протязі 30хв, в умовах струшування через кожні 5хв, прохолоджували проточною водою та центрифугували зі швидкістю 1500об/хв на протязі 6хв. По завершенню видаляли надосадову рідину, ресуспензували осад, відбирали 0,2мл від залишку, доводячи в ньому співвідношення клітин дріжджів і фагоцитів до 10:1. Мазки формували на предметних стеклах, висушували, фіксували етанолом'96 та забарвлювали фарбою Гимза-Романівського. При мікроскопіюванні в полі зору мікроскопа виявляли 100 нейтрофілів. З підрахунку, показник резорбції *Sachfromyces cereevisiae* з нейтрофілами, які фагоцитують за реакцією, становив 51%, а середнє число їх поглинання кожним фагоцитом - 6,2. Це відбивало нормальний стан фагоцитарної активності (імунного статусу) у конкретній пробі.

Виходячи з наданих тверджень, заявник допускає, що вдосконалення відомого способу визначення фагоцитарної активності нейтрофілів відповідає критерію «промислової придатності», адже перевернення вищезазначеного технічного результату відбулося на основі засобів, що були відомі з рівня техніки за подією пріоритету, а його характеристика, що зазначена у формулі, визначає відмінність його від об'єктів аналогічного призначення й межі правового статусу, що дозволяє кваліфікувати запропоноване рішення задачі корисною моделлю процесу.

Аналоги:

1. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. Под ред. проф. В.В.Мечникова. М.: Медицина, 1987.
2. С.А.Кетшлинский. Н.М.Калинина. Иммунология для врача. С.-Пб., 1998.
3. Ю.И.Иванов, О.Н.Погорелюк. Обработка результатов медико-биологических исследований. М.: Медицина, 1990. -217с.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 38249 (13) U
(51) МПК (2006)
A61K 33/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЯК ПРЕПАРАТУ ДЛЯ ЗАГОЄННЯ РАН

1

2

(21) u200810468

(22) 18.08.2008

(24) 25.12.2008

(46) 25.12.2008, Бюл.№ 24, 2008 р.

(72) ДЗЯК ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, УА, ДРОЗДОВ
ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, УА, ЗОРІН ОНДРІЙ МИ-
КИТОВИЧ, УА(73) ДЗЯК ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, УА, ДРОЗДОВ
ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, УА, ЗОРІН ОНДРІЙ МИ-
КИТОВИЧ, УА(57) Застосування протизапального лікарського
засобу як препарату для загоєння ран.

Корисна модель відноситься до медицини, зокрема, до ліків і медикamentів, що включають неорганічні активні інгредієнти та може бути використаною в терапії раневих процесів.

Відомо використання фармакологічної активності метилурацилу, пентоксилу, декспантенолу (пантенолу, бепатену), прополісу, куріозину, актовегіну, солкосерілу в терапії раневих процесів [1]. Узагальнення властивостей їхніх лікарських форм, схем застосування і вмісту інгредієнтів свідчить про те, що загоєння ран після системного або місцевого впливу цими препаратами у більшості випадків настає на пізніх етапах, починаючи з II стадії загоєння ран, тобто з моменту утворення грануляційної тканини. Головною причиною недостатньої ефективності наведених засобів є низька розчинність, що для прискорення загоєння ран часто вимагає підсилення регенераторних реакцій, трофіки, антимікробної активності тощо, за допомогою додаткових препаратів, що здорожує лікування. Натомість, вплив солкосерілом, актовегіном, куріозином, прополісом, що мають тваринне походження, призводить до появи алергічних реакцій, з-пов'язаних з наявністю чужорідних активних інгредієнтів, наприклад, солі металів, зокрема міді, цинку, срібла й т.п. прискорюють процеси загоєння за рахунок активації місцевого впливу на гоєння рани [2]. Внаслідок незбалансованого хімічного складу вони слабо стимулюють систему кровопостачання, звужують судини, що взагалі уповільнює прискорення репаративних процесів. Тому їх застосування обмежене і часто показане при не досить глибоких ранах (дрібних пораненнях), з-поза наведення подразнень і локальних омертвінь тканин і навіть отруєння при їхньому всмоктуванні в кров.

З хірургічної практики відомо застосування гіпертонічного розчину NaCl для загоєння ран [3]. Цей фармакопрепарат дещо прискорює загоєння ран за рахунок прискорення вивільнення ексудату з зони пошкодження лейкоцитів, сироватки крові зі слабо лужним рН, а також видалення тканинного детриту. Такий позитив зумовлений підвищенням осмотичного тиску на раневу поверхню, внаслідок впливу гіпертонічним розчином NaCl. Але вказаний фармакопрепарат, хоча й прискорює загоєння ран на I стадії, на пізніх етапах - гальмує та ускладнює процес загоєння, ушкоджуючи грануляційну тканину з викликом болючих синдромів. Поряд із цим, цей засіб не випускається фармацевтичною промисловістю, як не досить стандартизований, а його лікарські форми (розчини) є малостійкими, з низьким ступенем очищення.

Інші, більш ефективні фармакологічні засоби в терапії раневих процесів не встановлені.

В основу дійсної корисної моделі поставлена задача на основі селекції фармакологічних засобів іншого призначення знайти новий препарат для загоєння ран, використання якого за новим призначенням дозволило б підвищити ефективність терапії та розширити межу його переважної придатності.

Рішення поставленої задачі досягається застосуванням відомого протизапального лікарського засобу, вперше як препарату для загоєння ран, що відповідає критерію «новизна».

Як інформує аналіз кількісного вмісту водорозчинних інгредієнтів лікарського засобу протизапальної дії [4]:

MgCl ₂	35,9-36,2
KCl	0,29-0,31
CaSO ₄	0,04-0,05
Fe	0,120-0,130

Al	0,00025-0,00030
Mn	0,00003-0,00004
Zn	0,000022-0,000059
Cu	0,0000030-0,0000042
Cd	0,0000015-0,0000031
Вода	решта

загальна концентрація суміші макро- та мікро- елементів мінеральних солей, що реалізує біологічну активність препарату, в ньому складає близько 37,0%. Наявність $MgCl_2$, KCl , $CaSO_4$, Fe , як неорганічних активних макро- та мікроелементів мінеральних солей та водорозчинних сполук Cu , Mn , Cd , Al , Zn зумовлює стабільність протизапальної дії та стимулює кровопостачання на uszkodжених пораненнях ділянках шкіри. Загоювання ран, опіків, трофічних виразок тощо зумовлене в'язучою активністю Cu , Mn , Zn і можливістю утворення менш щільних альбумінатів при міграції їхніх катіонів, що знижує резистентність тканин і збільшує їхню проникливість у рани більш глибокої дислокації, чим вищенаведені аналоги.

За цих умов, виникає перспектива щодо розширення межі придатності відомого засобу протизапальної дії в терапії раневих процесів, з можливістю підвищення ефективності (прискорення) заживання, закриття, заліковування, зарубцювання, затикування ран «механічного» походження, а не лише бактеріального чи інфекційного генезу (нагноєння, припухлості, запалення).

На Фіг.проілюстровані морфологічні зрізи шкіри кінцівки щура, щодо зміни гістологічної будови шкіри білого щура за звичайних умов (Фіг.1), в динаміці лікування гіпертонічним розчином $NaCl$ (Фіг.2) і запропонованим препаратом для загоєння ран (Фіг.3).

На Фіг.1 позначені: шипуватий шар епідермісу 1, з 3-4 шарами клітин; дерма 2; волоссяні фолікули 3; потові залози 4.

На Фіг.2 зображені: акантоз 1, з потовщенням шипуватим шаром епідермісу до 5-7 рядів клітин; дерма 2, з ділянкою набряку та деструкції матриксу сполучної тканини; волоссяні фолікули 3; протока потової залози 4; слизоподібна гістолейкоцитарна інфільтрація сосочкового шару дерми 5; проліферація судин шкіри 6.

На Фіг.3: акантоз 1, з потовщенням шипуватого шару епідермісу до 10-12 рядів клітин; дерма 2, з ділянкою поодинокого вогнища набряку, волоссяний фолікул 3; масована гістолейкоцитарна інфільтрація товщі дерми 4; колагенові волокна 5, з прискореною проліферацією; підсилена проліферація судин шкіри 6.

Для лікування раневих процесів найбільш доцільним є залучення розчину протизапального лікарського засобу «Бішофіт» (для зовнішнього застосування), виробництва ЗАТ «Лугафарм» (Україна), що зареєстрований за №P.05.03/06900 (Серія 010204) в Україні:

$MgCl_2$	35,9-36,2
KCl	0,29-0,31
$CaSO_4$	0,04-0,05
Fe	0,120-0,130
Al	0,00025-0,00030
Mn	0,00003-0,00004
Zn	0,000022-0,000059

Cu	0,0000030-0,0000042
Cd	0,0000015-0,0000031
Вода	решта

Підвищення ефективності (прискорення) заживання, закриття, заліковування, зарубцювання, затикування ран, насамперед опіків, трофічних виразок й інших ран «механічного» походження досягається їх місцевим лікуванням шляхом накладання пов'язок, зрошених «Бішофітом» через кожні 3 години на протязі 7 днів, під наглядом лікаря.

Оцінку ефективності препарату для загоєння ран здійснювали на статевозрілих щурах лінії Vistar, у порівнянні з впливом гіпертонічного розчину $NaCl$.

Рани моделювали під ефірним наркозом, в асептичних умовах, шляхом нанесення розрізу на середині зовнішньої поверхні стегна, на глибину 2,5-3мм і 15-25мм довжиною. На закінчення операцій на раневі поверхні кінцівок однієї групи щурів накладали пов'язки з гіпертонічним розчином $NaCl$, а у іншій групі - з препаратом для загоєння ран, через 3,7 і 14 діб після моделювання.

Морфологічна картина перифокального uszkodження субепідермальної ділянки кінцівки щура через 3-5 хвилин після моделювання травми наведена на Фіг.1. Гістологічна будова шкіри, що спостерігається на Фіг. була використана як вихідний показник, адже за той час, що минув після моделювання рани, скінчувався механічний вплив на тканини кінцівки, а біологічні реакції, які входять до процесів гоєння ран, були ще не розвинутими. Тобто альтерація була завершеною, а ексудація та проліферація тканин ще не розпочинались.

На Фіг.2 показано, що вже на 3 добу після моделювання рани гіпертонічний розчин $NaCl$ дещо прискорює загоєння рани, за наявності акантозу 2, коли кількість рядків у шарі епідермісу збільшується до 5-7 та спостерігається підсилення проліферації судин 6. Цей позитив прискорює загоювання ран на I стадії, внаслідок підвищення осмотичного тиску на раневу поверхню. Водночас, у подальшому стають очевидними поширення набряків на ділянках деструкції матриксу сполученої тканини 2, а також утворення полосоподібної інфільтрації лейкоцитами сосочкового шару дерми та її гістолейкоцитарної форми. Тобто, на пізніх етапах лікування цей засіб істотно гальмує та ускладнює перебіг загоєння ран, ушкоджуючи грануляційну тканину з викликом болючих нападів.

Фіг.3 інформує про те, що кількість шарів клітин епідермісу збільшується до 10-12, а проліферація під впливом запропонованого препарату відбувається з більш високою інтенсивністю 1. Спостерігаються підсилення утворення колагену 5, волокна котрого врастають безпосереднім чином у дерму, та прискорення проліферації судин 6 на перифокальній ділянці раневої поверхні, відносно експерименту з гіпертонічним розчином $NaCl$.

У перші п'ять годин були визначені зміни об'ємів кінцівок у щурів, котрі отримували лікування на основі аплікацій запропонованим препаратом для загоєння ран, які наведені у табл.1.

Таким чином, з аналізу зображень, наданих на Фіг.1-3, і динаміки змін обсягу кінцівки щура після

моделювання травми можливо дійти висновку про те, що вплив запропонованим препаратом, у зіставленні з гіпертонічним розчином NaCl, який має позитив лише на I стадії загоєння, прискорює загоєння ран у 1,4-2,4 рази, а від того є більш ефективним в терапії раневих процесів, що відповідає умові «промислова придатність». Його використання у відомому вигляді сприятиме прискоренню відновлення епідермісу, м'язових структур, поліп-

шенню мікроциркуляції крові після механічного пошкодження, а також поширенню меж переважного використання в медицині. Характеристика застосування, що зазначена у формулі, визначає межі його правового статусу та забезпечує відрізнєння від об'єктів аналогічного призначення, а з урахуванням наведених тверджень допускає можливість його кваліфікації корисною моделлю.

Таблиця

Динаміка змін обсягу кінцівки щура після моделювання рани та впливу запропонованим препаратом для загоєння ран

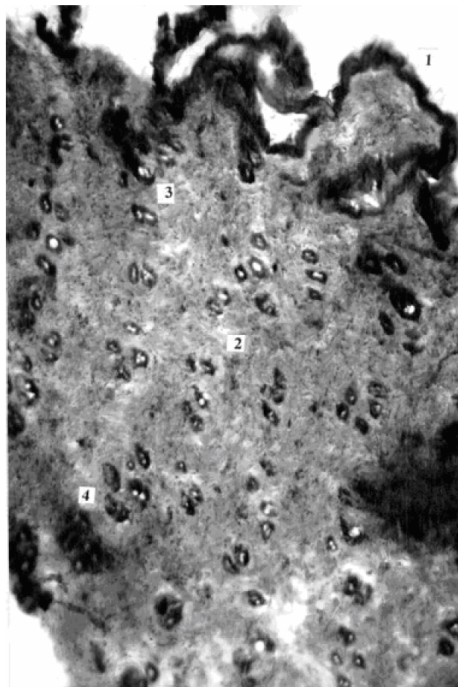
Кроки експерименту	Параметри ушкодженої кінцівки			
	обсяг кінцівки, см ³	зміна обсягу, %	обсяг кінцівки, см ³	зміна обсягу, %
До моделювання рани		До впливу запропонованим препаратом		
На початку	1,80±0,09		1,80±0,09	
Після моделювання рани		Після впливу запропонованим препаратом		
Через 60хв	2,29±0,12	+27,2	2,45±0,15	+36,1
Через 120хв	2,77±0,14	+53,8	3,01±0,05	+67,2
Через 180хв	2,85±0,16	+58,3	3,25±0,14	+80,6
Через 300хв	2,96±0,07	+64,4	3,23±0,13	+79,4

Джерела інформації:

1. Компендиум. Лекарственные препараты //Под. ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. -К.: Магнот, 2003. -1388с.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства /Справочник. М.: Медицина. - 1999.

3. Справочник Видаль. - М.: Астра Фарм Сервис, 2005. - 1198с.

4. Протизапальний лікарський засіб: Пат. 44442А України, МПК А61К33/00 /Дзяк Г.В., Дроздов О.Л., Зорін О.М., Головін В.О., Холод Б.І., Істомін В.П. (Україна). - №2001021040; заявл. 14.02.01; опубл. 15.02.02.



Фіг. 1



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **44980** (13) **U**

(51) МПК (2009)
G01N 30/00
G01N 30/02 (2009.01)
G01N 33/15

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЗАСТОСУВАННЯ СПОСОБУ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ТЕОФІЛІНУ ЯК СПОСОБУ ВИМІРЮВАННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ДОКСОФІЛІНУ У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ

1

2

(21) u200903895

(22) 21.04.2009

(24) 26.10.2009

(46) 26.10.2009, Бюл. № 20, 2009 р.

(72) ДЗЯК ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, ПЕРЦЕВА ТЕТЯНА ОЛЕКСІВНА, ВЯТКІН ОЛЕКСАНДР КОСТЯНТИНОВИЧ, ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, КАЧАНОВ СЕРГІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, ГАШЕНОВА КАТЕРИНА ЮРІївНА, БІЛОНОЖКО МАКСИМ ВАСИЛЬОВИЧ

(73) ДЗЯК ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, ПЕРЦЕВА ТЕТЯНА ОЛЕКСІВНА, ВЯТКІН ОЛЕКСАНДР КОСТЯНТИНОВИЧ, ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, КАЧАНОВ СЕРГІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, ГАШЕНОВА КАТЕРИНА ЮРІївНА, БІЛОНОЖКО МАКСИМ ВАСИЛЬОВИЧ

(57) Застосування способу визначення вмісту теофіліну у водному розчині як способу вимірювання концентрації доксофіліну у водному розчині.

Корисна модель відноситься до досліджень, аналізу матеріалів шляхом розділення їх на складові частини, зокрема, до рідинної колоночної хроматографії, досліджень медичних препаратів і може використатися у сфері контролювання їхньої якості.

З досліджуваного рівня техніки відомий спосіб визначення складу лікарської форми, що включає регенерацію, розділення інгредієнтів проби за допомогою фосфатного буфера, виготовленого на основі метанолу, й трикратне визначення концентрації вітамінних груп шляхом хроматографії [1]. Недоліками аналогу є низька чутливість і вузький діапазон лінійних хроматографічних вимірювань, що робить його інтеркурентним у сфері кількісно-якісних досліджень складних лікарських форм. насамперед доксофіліну (ансімару). На погляд заявника це зумовлене слабкою активністю елюенту, надмірною тривалістю інтервалів між періодами утримання контрольованих субстанцій та електролітичною невідповідністю фосфатного буфера.

Інші об'єкти, щодо вимірювання або визначення концентрації доксофіліну, з досліджуваного рівня техніки не виявлені.

До основи дійсної корисної моделі поставлена задача винайти на основі селекції засобів дослідження складних лікарських форм спосіб вимірювання концентрації доксофіліну у водному розчині, застосування котрого сприяло б збільшенню

чутливості та розширенню діапазону лінійних хроматографічних вимірювань.

Поставлена задача вирішується застосуванням способу визначення вмісту теофіліну у водному розчині [2], вперше, як способу вимірювання концентрації доксофіліну у водному розчині, що відповідає критерію «новизна».

Спосіб ілюструється хроматограмою піку доксофіліну (ансімару) й технічною характеристикою (табл. 1).

Форма ультрафіолетового спектру доксофіліну дозволяє відрізнити його від решти складних лікарських форм. Ідентифікацію хроматографічного піку доксофіліну здійснюють за часом його утримання та ультрафіолетовим спектром, який характеризується двома максимумами на довжинах хвилі 206 і 273 нм, мінімумом між ними на довжині хвилі 245 нм і середньостатистичним співвідношення відгуків аналітичного сигналу на довжинах хвилі 206 і 273 нм, яке дорівнює 2,90. Поряд із цим, площа хроматографічного піка на довжині хвилі 273 нм, що вимірюється шляхом інтегрування хроматографічної кривої, є показником концентрації доксофіліну у водному розчині.

Сутність способу визначення вмісту теофіліну при його використанні як способу вимірювання концентрації доксофіліну у водному розчині полягає в наступному.

Для визначення концентрації доксофіліну у водному розчині залучають хроматографічну систему «Shimadzu LC-20AD», що складається з дега-

затора «Shimadzu DGU-20A3», двох плунжерних насосів «Shimadzu LC-20AD», які забезпечують швидкість потоку елюенту 0,1-1,0 мл/хвил, системи градієнту високого тиску і колонок «Mag-cherey-Nagel» Ø 2 мм і довжиною 125 мм. Для їх роботи застосовують обернено-фазовий сорбент «Nucleosil 100-5 C 18 HD», у вигляді гранул Ø 5 мкм, передколонки 10мм довжини й термостат «Shimadzu CTO-20A». Для забезпечення детекції використовують спектрометричний діодно-матричний детектор «Shimadzu SPD-M20A», що працює в діапазоні довжин хвиль 190-800 нм й елюент, приготовлений у вигляді суміші ацето-нітрилу з водою при технологічно сприйнятливому співвідношенні їхніх масових частин.

Для визначення концентрації проби доксофіліну її піддають центрифугуванню у пластикових мікроконтейнерах «Епендорф». Надалі, не скаламучуючи осад, виділяють супернатант за допомогою піпеткового дозатора. Підготовлений таким чином водний розчин доксофіліну вводять у хроматографічну систему та здійснюють хроматографування, з використанням як елюенту технологічно сприйнятливої водної суміші ацетонітрилу. Ідентифікацію хроматографічного піку доксофіліну здійснюють за часом його утримання та ультрафіолетовим спектром, який має два максимуми на довжинах хвиль 206 і 273 нм, мінімум між ними на довжині хвилі 245 нм (див мал.) і характеризується середньостатистичним співвідношенням відгуків аналітичного сигналу (2,90) на довжинах хвиль 206 і 273 нм.

Перспектива застосування зв'язується з регуляцією терапевтичних навантажень на людину.

Центрифугування водного розчину в пластикових мікро-контейнерах типу «Епендорф» забезпечує видалення розчинених газоподібних речовин, осадження важких мінеральних компонентів та виділення супернатанту.

Суміш ацетонітрилу з водою забезпечує спорідненість визначаємої субстанції та водного розчину з елюентом, утворює між періодами утримання виділених фракцій інтервали, достатні для вимірювання концентрацій доксофіліну у пробі з реалізацією оптимальної чутливості та лінійності в широкому спектральному діапазоні, що вигідно відрізняє запропоноване застосування від наведеного аналога [1].

Зміна співвідношення компонентів елюенту в межах допуску допускає вплив на селективність, що сприяє збільшенню порогу чутливості і розширення діапазону лінійних хроматографічних вимірювань концентрацій доксофіліну (Табл. 1).

Приклад. Водний розчин доксофіліну невідомої концентрації центрифугували у пластикових

мікроконтейнерах «Епендорф» з кутовою швидкістю біля 6000 об/хвил протягом 5 хвил. Супернатант за допомогою мікродозатора переносили в інший мікроконтейнер «Епендорф», не скаламучуючи осад. Потім 10 мкл супернатанту вводили у хроматографічну систему «Shimadzu LC-20AD» і, під тиском потоку розчинників на вході у хроматографічну колонку до 10 Мпа, здійснювали хроматографування, в ізократичному режимі, при співвідношенні води й ацетонітрилу 92:8 з об'ємною швидкістю 0,2 мл/хвил. В діапазоні хвиль 190 - 360 нм фіксували спектр доксофіліну. За хроматограмою піку доксофіліну на довжині хвилі 273 нм вимірювали достовірну концентрацію останнього у пробі.

Наданий приклад використання відомого способу за новим призначенням доводить можливість повної екстракції складної лікарської форми доксофіліну у водному розчині шляхом колоночної хроматографії за рахунок збільшення чутливості та розширення діапазону лінійних вимірювань. Його застосування у сфері контролювання якості медпрепаратів набуває значущості з-поміж високої достовірності ідентифікації та вимірювань концентрації як параметра фармакологічної якості, що відповідає умові «промислова придатність».

Характеристика застосування, яка зазначена у формулі, визначає межі його правового статусу та забезпечує відрізнення від об'єктів аналогічного призначення, а з урахуванням наведених тверджень, допускає можливість його кваліфікації як корисної моделі.

Таблиця 1

Технічна характеристика способу вимірювання концентрації доксофіліну у водному розчині

Показники вимірювання концентрації доксофіліну	На довжинах хвиль, нм	
	206	273
Чутливість, нг/мл	50	150
Лінійність діапазону, нг/мл-мг/мл	50-6,0	150-15,0

Джерела інформації:

1. Способ определения состава лекарственной формы: Заяв. 97106926 России, МПК G01N 33/52 / Т.С.Малолеткина (Россия). - №97106926/14; заявл. 25.04.97; опубл. 20.04.99.

2. Теофілін / <http://ilch.vsmu.edu.ua/hplc/drug/l-0002.htm> (Сайт спільної медико-біологічної лабораторії Вінницького державного університету ім.М.І.Пирогова та Інституту поверхні НАН України); 10.09.2001.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 45059 (13) U
(51) МПК (2009)
G01N 30/00
G01N 33/15

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ПЕПТИДІВ, ПРИТАМАННИХ БІЛКАМ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

1

(21) u200904838

(22) 18.05.2009

(24) 26.10.2009

(46) 26.10.2009, Бюл. № 20, 2009 р.

(72) ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, КОШЕ-
ЛЄВ ОЛЕГ СТАНІСЛАВОВИЧ, БІЛОНОЖКО МАК-
СИМ ВАСИЛЬОВИЧ, КИТЕНКО НАТАЛІЯ ВІКТО-
РІВНА, ГАЙДАШ ОЛЕКСАНДРА МИКОЛАЇВНА,
ШАЛАПУТА ТЕТЯНА МИКОЛАЇВНА

(73) ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, КОШЕ-
ЛЄВ ОЛЕГ СТАНІСЛАВОВИЧ, БІЛОНОЖКО МАК-
СИМ ВАСИЛЬОВИЧ, КИТЕНКО НАТАЛІЯ ВІКТО-
РІВНА, ГАЙДАШ ОЛЕКСАНДРА МИКОЛАЇВНА,
ШАЛАПУТА ТЕТЯНА МИКОЛАЇВНА

(57) Спосіб визначення пептидів, притаманних
білкам рослинного походження, що включає підго-
товку проби до тестування, екстрагування білків, їх
розділення на пептиди під впливом домішки трип-

2

сину, очищення, рідинне хроматографування, мас-
спектрометричне сканування пептидів, формуван-
ня і оцінку пептидної карти за допомогою комп'ю-
терної програми, який **відрізняється** тим, що до-
датково як елюент рідинної хроматографії
залучають суміш ацетонітрилу з водою, з перемін-
ним градієнтом співвідношень об'ємних частин
0:100-100:0 в динаміці рідинного хроматографу-
вання, доводять його тривалість до 20хв., іонізу-
ють пептиди шляхом електророзпилювання, ска-
нують позитивні іони мас-спектрометричним
шляхом, в діапазоні 10-2000 атомних одиниць ма-
си, за пептидною картою ідентифікують піки іонів
пептидів за часом утримання та співвідношенням
маси іона до його заряду, та констатують їх рос-
линне походження, якщо піки позитивних іонів пе-
пидів фіксують в діапазоні 500-1000 атомних оди-
ниць маси.

Корисна модель відноситься до досліджень,
аналізу матеріалів шляхом розділення їх на скла-
дові частини, зокрема, до рідинної колонкової
хроматографії, мас-спектрометрії, засобів лабора-
торної діагностики та може бути використаною у
сфері контролювання якості харчових продуктів,
біологічно-активних добавок і регуляції вмісту соє-
вих білків у лікарських препаратах.

Більш наближеним до дійсної корисної моделі
за сукупністю істотних ознак серед об'єктів анало-
гічного призначення є спосіб визначення пептидів
притаманних білкам рослинного походження (або
тестування продукту на утримання сої), що
включає підготовку проби до тестування, екстрагу-
вання білків, їх розділення на пептиди під впливом
домішки трипсину, очищення, рідинне хромато-
графування, мас-спектрометричне сканування пе-
пидів, формування та оцінку пептидної карти за
допомогою комп'ютерної програми, у відповідності
з котрим, мас-спектрометричне сканування пепти-

дів, формування пептидної карти здійснюють тан-
демним шляхом за допомогою мас-спектрометра
МС/МС. Оцінку пептидної карти, як «відбитка екст-
рагента», та наступний аналіз складу продукту
виконують на основі зіставлення структури та по-
слідовності чергування амінокислот пептидів «від-
битка» поточного зразка з формами відомих тан-
демних мас-спектрів пептидів комп'ютерної бази
[1]. Проте властивості прототипу, хоча й допуска-
ють виявлення наявності білків чи протеїнів у про-
дукті, при використанні стримують точність кінце-
вого результату, з причин відсутності кількісних
характеристик пептидів, можливостей їх типової
кваліфікації та відрізнєння протеїнів рослинного
походження від натуральних тваринних білків. Ін-
шим недоліком відомого способу є лабораторна
незручність, пов'язана з необхідністю апгрейту
комп'ютерної бази нових форм тандемних мас-
спектрів пептидів.

До основи дійсної корисної моделі поставлена задача винайти спосіб визначення пептидів притаманних білкам рослинного походження, використання якого дозволило б на основі опрацювання шляхів пептидного картування збільшити точність тестування та лабораторні зручності.

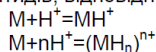
Поставлена задача вирішується тим, що при використанні у відомому способі визначення пептидів притаманних білкам рослинного походження, що включає підготовку проби до тестування, екстрагування білків, їх розділення на пептиди під впливом домішки трипсину, очищення, рідинне хроматографування, мас-спектрометричне сканування пептидів, формування і оцінку пептидної карти за допомогою комп'ютерної програми, відповідно до корисної моделі, додатково як елюент рідинної хроматографії залучають суміш ацетонітрилу з водою, з перемінним градієнтом співвідношень об'ємних частин 0:100-100:0 в динаміці рідинного хроматографування, доводять його тривалість до 20хвил., іонізують пептиди шляхом електророзпилювання, сканують позитивні іони мас-спектрометричним шляхом, в діапазоні 10-2000 атомних одиниць маси, за пептидною картою ідентифікують піки іонів пептидів за часом утримання та співвідношенням маси іону до його заряду, та констатують їх рослинне походження, якщо піки позитивних іонів пептидів фіксують в діапазоні 500-1000 атомних одиниць маси.

Причинно-наслідковий зв'язок сукупності відмінних ознак дійсної корисної моделі з вищезазначеним технічним результатом полягає в наступному.

Застосування суміші ацетонітрилу з водою з перемінним градієнтом співвідношень об'ємних частин від 0:100 до 100:0(%) протягом хроматографування оптимізує розділення пептидних фрагментів при їх відокремленні як від залишків проби, так і продуктів трипсинового автолізу. Тобто, зміна об'ємних співвідношень ацетонітрила і води в межах 0:100-100:0 підвищує елюенцію хроматографування, необхідну для збільшення точності кінцевого результату та покращення лабораторних зручностей. На інший погляд заявника, суміш ацетонітрилу з водою забезпечує спорідненість досліджуваної субстанції до води з елюентом, утворює між періодами їх утримання інтервали, що є достатніми для виявлення слабковиражених піків і допускає реалізацію, якомога, більшої чутливості, лінійності, у розширеному діапазоні характеристик пептидів.

Проведення рідинного хроматографування протягом 20хвил. в умовах градієнтного елюювання аналізу прискорює розділення компонентів проби. У порівнянні з ізократичним елююванням, це активує процес поділу пептидних піків і скорочує термін оцінки, у порівнянні з ізократичним елююванням, що відповідає рішення поставленої задачі.

Іонізація пептидів шляхом електророзпилювання забезпечує утворення одно- ($z=1$) чи багатозарядних ($z=n$) позитивних молекулярних іонів пептидів, відповідно до закономірностей:



де: M - нейтральна молекула пептидного фрагменту;

H^+ - Протон, отриманий внаслідок електризації суміші води та ацетонітрилу у потоці газоподібного азоту;

MH^+ - протонований однозарядний молекулярний іон;

n - кількість зарядів.

Сканування позитивних іонів мас-спектрометричним шляхом, переважно в діапазоні 10-2000 атомних одиниць маси (ат.од.м.), виявляє пептиди білків рослинного та тваринного походження, а ідентифікація хроматографічних піків іонів пептидів, за часом утримання і співвідношенням маси іону до його заряду (m/z) за допомогою пептидної карти, дозволяє виявити іони пептидів рослинного походження, в діапазоні 500-1000 ат.од.м. у даному ряді.

Таким чином, в результаті хроматографічного мас-сканування виникає тримірна картина, де одним виміром є час утримання хроматографічних піків, другим - значення співвідношень мас позитивних молекулярних іонів пептидів до їхнього заряду (m/z), а третім - інтенсивність аналітичного сигналу, яка залежить від кількості задетектованих молекулярних іонів пептидів (мал. 1). При цьому ділянка мас-хроматограми, на відрізку значень позитивних іонів 500-1000 ат.од.м., що фіксується в межах 10-14хвил. пептидної карти, інформує про наявність в аналізаті білків рослинного походження. За цих умов збільшується точність тестування, оскільки запропонований діапазон фіксації позитивних іонів є більш показовим для протеїнів рослинного походження, ніж для білків м'ясних продуктів, а кількісні характеристики пептидів на цьому відрізку дозволяють типувати й відрізнати протеїни рослинного походження (в нашому випадку сої) від натуральних тваринних білків.

Ідентифікація хроматографічних піків іонів пептидів за часом їх утримання, та співвідношенням маси до заряду (m/z) характеризує конкретний пептид більш вірогідно, ніж форма вищезазначеного «відбитка» за прототипом. Це забезпечує типову кваліфікацію і відрізнання протеїнів рослинного походження від натуральних тваринних білків. Перевершення точності досягається й за рахунок кількісних значень вищезазначених характеристик. Поряд із цим, це підвищує лабораторні зручності, адже застосування кількісних критеріїв та їх диференціювання у мас-спектральному діапазоні виключає дослідження структури та послідовності чергування амінокислот пептидів, застосування бази форм тандемних мас-спектрів пептидів і необхідність її регулярного поновлення.

Тож, запропоновані відмінні ознаки корисної моделі є суттєвими, адже за сукупністю вони необхідні і достатні для вирішення поставленої задачі й досягнення заявленого технічного результату. Сукупність відмінних суттєвих ознак, що характеризує дійсний спосіб, невідома з рівня техніки, а від того є новою, поширюється на усі випадки його багаторазової реалізації та розповсюджується на затребуваний об'єм його правового захисту.

Відомості, які підтверджують можливість відтворення способу визначення пептидів притаман-

них білках рослинного походження, з можливістю перевернення вищезазначеного технічного результату, полягають в наступному.

Спосіб ілюструється зображенням характеристичних пептидів сої (Фіг.1, 2), виглядом пептидів трипсину (Фіг..3) і технічною характеристикою (табл.1).

Сутність.

Для відтворення способу залучають хроматографічну мас-спектрометричну систему «Shimadzu LCMS-2010EV» (Японія), що складається з дегазатора «Shimadzu DGU-20Aз», двох плунжерних насосів «Shimadzu LC-20AD», градієнтної системи високого тиску та хроматографічних колонок «Marcherey-Nagel» (Ø 2мм і довжиною 125мм). Для мас-специфічного сканування на довжин хвиль 190-800 нм залучають спектрометричний діодно-матричний детектор «Shimadzu SPD-M20A» (Японія) у комплексі з квадрупольним мас-спектрометричним детектором і пристосуванням для іонізації потоку елюенту «Shimadzu LCMS-2010EV» (Японія). Як хроматографічний елюент залучають суміш ацетонітрилу з водою, з періодичним градієнтом співвідношення їхніх об'ємних частин 0:100–100:0 в динаміці хроматографування. Також застосовують оберненофазовий сорбент «Nucleosil 100-5 C18 HD», у вигляді 5мм гранул, передколонок 10мм довжини і термостат «Shimadzu CTO-20A» (Японія), а для оцінки пептидної карти - комп'ютерну програму «LCMSsolution» («Shimadzu», Японія).

Щоб підготувати пробу до тестування, її послідовно піддають гомогенізації, диспергуванню, інкубації, центрифугуванню та мікроскопічній фільтрації. Це сприяє безперешкодній реалізації процесу та переверненню вищезазначеного технічного результату в напрямках посилення точності і покращення лабораторних зручностей за рахунок усунення викривлень форм хроматографічних піків, кількісних значень запропонованих характеристик пептидної карти і без залучення бази форм тандемних мас-спектрів пептидів.

Надалі, під впливом домішки трипсину, здійснюють гідроліз білків та розділяють їх на пептиди, піддають очищенню, рідинному хроматографуванню, використовуючи хроматографічну систему «Shimadzu». Здійснюють мас-спектрометричне сканування, за допомогою квадрупольного мас-спектрометричного детектора «Shimadzu», формують пептидну карту та оцінюють її за допомогою комп'ютерної програми «LCMSsolution». При цьому як елюент рідинної хроматографії залучають суміш ацетонітрилу з водою, з періодичним градієнтом співвідношень об'ємних частин 0:100-100:0 в динаміці хроматографування. Доводять її тривалість до 20хв. Іонізують вивільнені пептиди шляхом електророзпилювання та сканують їх позитивні іони мас-спектрометричним шляхом в діапазоні 10-200ат.од.м., за допомогою квадрупольного мас-спектрометричного детектора «Shimadzu». За пептидною картою ідентифікують хроматографічні піки останніх, за такими кількісними показниками як час утримання та співвідношення маси іону до його заряду. При цьому констатують рослинне походження позитивних іонів пептидів, якщо їх

фіксують в діапазоні 500-1000ат.од. маси, тобто визначають наявність пептидів притаманних рослинним білкам (у нашому випадку сої).

Висока селективність та специфічність спектрометричного шляху сканування позитивних іонів шляхом мас-фільтрування, допускає виявлення в одному хроматографічному піці одного часу утримання і декілька мас-піків (в діапазоні 500-1000ат.од.м), достатніх для визначення у продукті слідів характеристичних пептидів рослинного походження високоточним чином, оскільки після селективного подрібнення білків і протеїнів трипсином, виникає можливість ідентифікації пептидних зв'язків, сформованих карбоксильними групами амінокислот лізину, аргініну та груп пептидів, що об'єктивно характеризують різновиди походження білків та протеїнів.

Технічна характеристика способу, що низведена у таблиці, інформує про числові дані хроматографування підготовленого зразку рослинного білку, характерні для відокремлення пептидів притаманних рослинам (у нашому випадку сої) від інших. В таблиці показано час виходу з хроматографічної колонки продуктів автолізу трипсину, а саме: 14-15 хвилин, та співвідношення маси до заряду (m/z) позитивних молекулярних іонів пептидів, що є продуктами автолізу, а саме: 516, 560, 604, 648, 692, 736, 780, 824, 868ат.од.м., тобто тих складових пептидної карти, які не є притаманними рослинним пептидам. В таблиці також наведений час виходу з хроматографічної колонки пептидів, які є продуктом трипсинового подрібнення білків об'єкту, що аналізується (у нашому випадку сої), а саме: 11-12 хвилин, та співвідношення маси до заряду (m/z) позитивних молекулярних іонів пептидів 504, 548, 592, 608, 613, 636, 680, 724 та 768ат.од.м. При цьому, саме пептиди з $m/z=608$ та 613 й є притаманними білкам рослинного походження (у нашому випадку білкам сої).

За цих умов істотно збільшують точність тестування та покращують лабораторні зручності.

Приклад. Пробу біологічного об'єкту піддавали тестуванню на наявність домішки сої.

Вибір сої для визначення пептидів притаманних рослинним білкам у нашому випадку обумовлений найбільшою поширеністю продуктів з неї, в якості харчових [2].

Для цього аналізат, масою до 150г, піддавали гомогенізації за допомогою побутового блендера (подрібнювача тканин), задля диспергування, порушення клітинної структури та реалізації однорідної маси. Гомогенат у кількості 0,02г відбирали у скляний гомогенізатор, розтирали маточкою, додаючи 0,5% розчин амонійно-гідрокарбонатного буферу при pH=8,2, трьома порціями по 0,5мл. Здійснювали диспергування 8,2 pH амонійно-гідрокарбонатним буфером, що забезпечувало вивільнення протеїнів та їх переведення у суспензію. Отриману суміш обсягом ~20мл диспергували у цьому ж буфері. Кислотність диспергованої суспензії обирали як адекватну до трипсину, що є ферментом підшлункової залози людини. Від диспергованої проби відбирали 4мл аліквоти, до котрої додавали першу 0,5мл порцію свіжоприготовленого розчину трипсину на 0,001N хлорводневої

кислоти, а потім перемішували та інкубували при $T^{\circ} 37^{\circ}\text{C}$ у сухоповітряному термостаті біля 12 годин. Потім додавали другу 0,5мл порцію суміші трипсину на 0,001N хлорводневої кислоти, що сприяло подрібненню протеїнів на пептидні ланцюжки по карбоксильним групам амінокислот лізину й аргініну. Порційне введення трипсину в інкубоване середовище було необхідним для обмеження його автолізу, адже трипсин має протеїнове походження та схильний до подрібнення на пептидні фрагменти. Це дозволило отримати характеристичні пептидні фрагменти, притаманні білкам як тваринного, так і рослинного походження. Подрібнення протеїнів на пептидні фрагменти трипсину здійснювали при $T^{\circ} 37^{\circ}\text{C}$. Для вивільнення нерозчинених залишків, які заважають хроматографічному розділенню пептидних фрагментів, аналізат піддавали центрифугуванню. Центрифугування здійснювали зі швидкістю $\sim 1500\text{об/хвил}$ протягом 5 хвил, а потім переносили у пластикові мікроконтейнери типу «Епендорф» і завершували його з кутовою швидкістю $\sim 7000\text{об/хвил}$. через 10хвил. Для стабілізації хроматографічної системи отриманий супернатант піддавали мікроскопічній фільтрації, задля зменшення забруднення хроматографічної колонки твердими мікрочастинками.

Після підготовки проби до екстрагування білків, в ній визначали наявність пептидів, притаманних білкам рослинного походження.

Для цього 10мкл фільтрату впорскували у хроматограф «Shimadzu», а як елюент хроматографічного процесу застосовували суміш ацетонітрилу з водою, з перемінним градієнтом співвідношень об'ємних частин 0:100-100:0 в динаміці хроматографування. Застосування елюенту в межах перемінного градієнту співвідношень об'ємних частин його компонентів сприяло оптимізації елюенції, а від того, збільшенню точності тестування. 20 хвилинна тривалість рідинного хроматографування була прийнятною в напрямках збільшення точності тестування та лабораторних зручностей

за рахунок точного поділу пептидних піків в діапазоні сканування та скорочення тривалості оцінки аналізату. Для утворення одно- чи багатозарядних позитивних молекулярних іонів пептидів їх піддавали іонізації шляхом електророзпилювання. Позитивні іони останніх сканували за допомогою квадрупольного мас-спектрометричного детектора «Shimadzu», в діапазоні співвідношень мас іонів до заряду 10-2000ат.од. маси, з можливістю виявлення пептидів білків як рослинного, так і тваринного походження. Використовуючи пептидну карту, отриману програмою «LCMSsolution», ідентифікували хроматографічні піки іонів пептидів за часом утримання та співвідношенням маси іону до його заряду та констатували рослинне походження іонів пептидів (у нашому випадку пептидів притаманних сої), оскільки характерні для них мас-піки 608 і 613ат.од.м. фіксували в діапазоні 500-1000ат.од.м. (див. Фіг.1).

Наданий приклад конкретного використання способу демонструє можливість багаторазового використання кількісних характеристик пептидів, типової кваліфікації при відрізнення протеїнів рослинного походження від натуральних тваринних білків, без апгрейту комп'ютерної бази нових форм тандемних мас-спектрів пептидів, що покращує точність і лабораторні зручності, а поряд із цим, розширює межі пептидного картування у сфері контролювання якості харчових продуктів, біологічно-активних добавок та регуляції вмісту соєвих білків у лікарських препаратах, що у перспективі зв'язується з покращенням якості харчових продуктів і результативності лабораторної праці, що відповідає умові «промислова придатність».

Характеристика способу, яка зазначена у формулі, визначає межі його правового статусу та забезпечує відрізнення від об'єктів аналогічного призначення, а з урахуванням наведених тверджень, допускає можливість його кваліфікації як корисної моделі процесу.

Таблиця

Технічна характеристика визначення характеристичних пептидів сої

Показники та од. їх вимірювання	Значення
Час виходу піків продуктів автолізу трипсину, хвил	14-15
m/z позитивних молекулярних іонів пептидів, що виникають внаслідок автолізу трипсину, ат.од.м.	516, 560, 604, 648, 692, 736, 780, 824, 868
Час виходу піків пептидів, притаманних білкам рослинного походження, хвил	11-12
m/z позитивних молекулярних іонів пептидів притаманних білкам рослинного походження, ат.од.м.	504, 548, 592, 608, 613, 636, 680, 724, 768
m/z позитивних молекулярних іонів пептидів притаманних білкам сої, ат.од.м.	608, 613

Джерела інформації:

1. Масс-спектрометрия в органической химии / А.Т.Лебедев. -М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. - С.321-323.
2. Гігієна харчування з основами нутриціології. / В.І.Ципріян та ін. Навч. посібник - К.:Здоров'я, 1999. - 568с.



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **54648** (13) **U**
(51) МПК (2009)
G01N 30/00
G01N 30/02 (2006.01)
G01N 33/15

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЗАСТОСОВУВАННЯ СПОСОБУ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ТЕОФІЛІНУ ЯК СПОСОБУ ВИМІРЮВАННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ СІДНОКАРБУ У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ

1

2

(21) u201002472

(22) 05.03.2010

(24) 25.11.2010

(46) 25.11.2010, Бюл.№ 22, 2010 р.

(72) БЕЛОНОЖКО МАКСИМ ВАСИЛЬОВИЧ, ВЯТКІН ОЛЕКСАНДР КОНСТАНТИНОВИЧ, ДЗЯК ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, КАЧАНОВ СЕРГІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, КОШЕЛЕВ ОЛЕГ СТАНІСЛАВОВИЧ, АЛЬ НАСИР ЕЙЯД

(73) БЕЛОНОЖКО МАКСИМ ВАСИЛЬОВИЧ, ВЯТКІН ОЛЕКСАНДР КОНСТАНТИНОВИЧ, ДЗЯК ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, КАЧАНОВ СЕРГІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, КОШЕЛЕВ ОЛЕГ СТАНІСЛАВОВИЧ, АЛЬ НАСИР ЕЙЯД

(57) Застосовування способу визначення вмісту теофіліну як способу вимірювання концентрації сіднокарбу у водному розчині.

Корисна модель відноситься до досліджень, аналізу матеріалів шляхом розділення їх на складові частини, зокрема, до рідинної колоночної хроматографії, досліджень медичних препаратів і може використатися у сфері контролювання їхньої якості.

З досліджуваного рівня техніки відомий спосіб визначення складу лікарської форми, що включає регенерацію, розділення інгредієнтів проби за допомогою фосфатного буфера, виготовленого на основі метанолу, та трикратне визначення концентрації вітамінних груп шляхом хроматографії [1]. Недоліками аналогу є низька чутливість і вузький діапазон лінійних хроматографічних вимірювань, що робить його інтеркурентним у сфері кількісно-якісних досліджень складних лікарських форм, насамперед сіднокарбу. На погляд заявника це зумовлене слабкою активністю елюенту, надмірною тривалістю інтервалів між періодами утримання контрольованих субстанцій та електролітичною невідповідністю фосфатного буфера.

Інші об'єкти, щодо вимірювання або визначення концентрації сіднокарбу, з досліджуваного рівня техніки не виявлені.

До основи дійсної корисної моделі поставлена задача винайти на основі селекції засобів дослідження складних лікарських форм спосіб вимірювання концентрації сіднокарбу у водному розчині, застосування котрого сприяло б збільшенню чут-

ливості та розширенню діапазону лінійних хроматографічних вимірювань.

Поставлена задача вирішується застосуванням способу визначення вмісту теофіліну [2], вперше, як способу вимірювання концентрації сіднокарбу у водному розчині, що відповідає критерію "новизна" та розширює межі його переважного використання.

Спосіб ілюструється хроматограмою піку сіднокарбу й технічною характеристикою (табл.).

Форма ультрафіолетового спектру сіднокарбу дозволяє відрізнити його від решти складних лікарських форм. Ідентифікацію хроматографічного піку сіднокарбу здійснюють за часом його утримання та ультрафіолетовим спектром, який характеризується двома максимумами на довжинах хвилі 194 і 207 нм, мінімумом між ними на довжині хвилі 203 нм і середньостатистичним співвідношення відгуків аналітичного сигналу у 1200 од, на довжинах хвилі 194 і 207 нм. Поряд із цим, площа хроматографічного піка на довжині хвилі 194 нм, що вимірюється шляхом інтегрування хроматографічної кривої, є показником концентрації сіднокарбу у водному розчині.

Сутність способу визначення вмісту теофіліну при його використанні як способу вимірювання концентрації сіднокарбу у водному розчині полягає в наступному.

Для визначення концентрації сіднокарбу у водному розчині залучають хроматографічну систе-

му "Shimadzu LC-20AD", що складається з дегазатора "Shimadzu DGU-20A3", двох плунжерних насосів "Shimadzu LC-20AD", які забезпечують швидкість потоку елюенту 0,1-1,0 мл/хв., системи градієнту високого тиску і колонок "Mag-cherey-Nagel" Ø 2 мм і довжиною 125 мм. Для їх роботи застосовують обернено-фазовий сорбент "Nucleosil 100-5 C18 HD", у вигляді гранул Ø 5 мкм, передколони 10 мм довжини й термостат "Shimadzu CTO-20A". Для забезпечення детекції використовують спектрометричний діодно-матричний детектор "Shimadzu SPD-M20A", що працює в діапазоні довжин хвиль 190-800 нм й елюент, приготовлений у вигляді суміші ацетонітрилу з водою при технологічно прийнятливому співвідношенні їхніх масових частин.

Для визначення концентрації проби сіднокарбу її піддають центрифугуванню у пластикових мікроконтейнерах "Епендорф". Надалі, не каламутьчи осад, виділяють супернатант за допомогою піпеткового дозатора. Підготовлений таким чином водний розчин сіднокарбу вводять у хроматографічну систему та здійснюють хроматографування, з використанням як елюенту технологічно прийнятливої водної суміші ацетонітрилу. Ідентифікацію хроматографічного піку сіднокарбу здійснюють за часом його утримання та ультрафіолетовим спектром, який має два максимуми на довжинах хвиль 194 і 207 нм, мінімум між ними на довжині хвилі 203 нм (див мал.) і характеризується середньостатистичним співвідношенням відгуків аналітичного сигналу 1200 од, на довжинах хвиль 194 і 207 нм.

Застосування раніш відомого способу за новим призначення збільшує чутливість у 1,5-2,0 рази та розширює діапазон лінійних хроматографічних вимірювань. Його перспектива зв'язується з регуляцією терапевтичних навантажень на людину при використанні сіднокарбу.

Центрифугування водного розчину в пластикових мікроконтейнерах типу "Епендорф" забезпечує видалення розчинених газоподібних речовин, осадження важких мінеральних компонентів та виділення супернатанту.

Суміш ацетонітрилу з водою забезпечує спорідненість визначуваної субстанції та водного розчину з елюентом, утворює між періодами утримання виділених фракцій інтервали, достатні для вимірювання концентрацій сіднокарбу у пробі з

реалізацією оптимальної чутливості та лінійності в широкому спектральному діапазоні, що вигідно відрізняє запропоноване застосування від наведеного аналога [1].

Зміна співвідношення компонентів елюенту в межах допуску допускає вплив на селективність, що сприяє збільшенню порогу чутливості і розширенню діапазону лінійних хроматографічних вимірювань концентрації сіднокарбу (Табл.).

Приклад. Водний розчин сіднокарбу невідомої концентрації центрифугували у пластикових мікроконтейнерах "Епендорф" з кутовою швидкістю близько 6000 об/хв протягом 5 хв. Супернатант за допомогою мікродозатора переносили в інший мікроконтейнер "Епендорф", не каламутьчи осад. Потім вводили 10 мкл супернатанту у хроматографічну систему "Shimadzu LC-20AD" і, під тиском потоку розчинників на вході у хроматографічну колонку до 10 МПа, здійснювали хроматографування, в ізократичному режимі, при співвідношенні води й ацетонітрилу 85:15 з об'ємною швидкістю 0,2мл/хвил. В діапазоні хвиль 190-360 нм фіксували спектр сіднокарбу. За хроматограмою піку сіднокарбу на довжині хвилі 194 нм вимірювали достовірну концентрацію останнього у пробі.

Порівняння результатів вимірів за даними наведеного прикладу та відомого аналога [1] дозволило дійти висновку про збільшення чутливості процесу хроматографування у 1,5-2,0 рази та розширення діапазону лінійних вимірювань сіднокарбу.

Наданий приклад використання відомого способу за новим призначенням доводить можливість повної екстракції складної лікарської форми сіднокарбу у водному розчині шляхом колоночної хроматографії за рахунок збільшення чутливості та розширення діапазону лінійних вимірювань. Його застосування у сфері контролювання якості медпрепаратів набуває значущості з-поміж високої достовірності ідентифікації та вимірювань концентрації як параметра фармакологічної якості, що відповідає умові "промислової придатності".

Характеристика застосування, яка зазначена у формулі, визначає межі його правового статусу та забезпечує відрізнєння від об'єктів аналогічного призначення, а з урахуванням наведених тверджень, допускає можливість його кваліфікації як корисної моделі.

Таблиця

Технічна характеристика способу вимірювання концентрації сіднокарбу у водному розчині

Показники вимірювання концентрації сіднокарбу	На довжинах хвиль, нм	
	194	207
Чутливість, мг/мл	0,04	55,00
Лінійність діапазону, мг/мл	0,04-5,00	55-4500

Джерела інформації:

1. Способ определения состава лекарственной формы: Заяв. 97106926 России, МПК G01N 33/52 / Т.С.Малолеткина (Россия). - №97106926/14; заявл. 25.04.97; опубл. 20.04.99.

2. Теофілін / <http://ilch.vsmu.edu.ua/hplc/drug/I-0002.htm> (Сайт спільної медикобіологічної лабораторії Вінницького державного університету ім. М.І.Пирогова та Інституту поверхні НАН України); 10.09.2001.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 56440 (13) U

(51) МПК (2011.01)

A61P 31/00

A61P 19/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОГО ХРОНІЧНОГО ОДОНТОГЕННОГО ОСТЕОМІЄЛІТУ ЩЕЛЕПИ

1

2

(21) u201009375

(22) 26.07.2010

(24) 10.01.2011

(46) 10.01.2011, Бюл. № 1, 2011 р.

(72) КОМСЬКИЙ МАРК ПЕТРОВИЧ, ДРОЗДОВ
ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, КОШЕЛЄВ ОЛЕГ СТАНІ-
СЛАВОВИЧ, СКАКОВСЬКА ОЛЬГА ІВАНІВНА, СЕ-
ЛЕХ ОЛЕКСІЙ ПЕТРОВИЧ(73) КОМСЬКИЙ МАРК ПЕТРОВИЧ, ДРОЗДОВ
ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, КОШЕЛЄВ ОЛЕГ СТАНІ-
СЛАВОВИЧ, СКАКОВСЬКА ОЛЬГА ІВАНІВНА, СЕ-

ЛЕХ ОЛЕКСІЙ ПЕТРОВИЧ

(57) Спосіб лікування антибактеріального хроніч-
ного одонтогенного остеомієліту щелепи, що
включає видалення гнійних вогнищ і комплексну
антибактеріальну терапію, який **відрізняється**
тим, що додатково здійснюють секвестректомію,
вводять катетер у поверхневу скроневу артерію,
через її зовнішній поверхневий відділ, і здійснюють
через нього лімфотропну терапію, де як антибак-
теріальний препарат вводять аугментин, у кілько-
сті 1,2 г, двічі на добу, протягом тижня.

Корисна модель відноситься до медицина, зо-
крема, до використання терапевтичної активності
хімічних сполук або лікарських препаратів, здебі-
льше, протиінфекційних (антибіотиків, антисепти-
ків тощо), до засобів, що поширені на лікування
кісткових тканин, і може бути використаною в хірур-
гічній стоматології або у щелепно-лицьовій хірур-
гії.

Відомий спосіб лікування остеомієліту щелепи,
який включає введення ліків під впливом постійно-
го електричного струму, наприклад, гепарину у
вену, суміші 20% водного розчину димексиду з
антибіотиком, у співвідношенні 1:1, зовні-ротово, 1
раз у день, на протязі 7-8 днів [1]. Недоліками
аналогу є складність відтворення та замала ефек-
тивність. Це пояснюється необхідністю електрич-
ної стимуляції фармакологічної основи, а також
дослідження виду мікроорганізмів з отриманням
уявлень щодо їхньої чутливості до обраного анти-
біотика. В умовах клініки вид мікроорганізмів мож-
ливо визначити після бактеріологічного посіву, не
раніше ніж через добу, а чутливість мікрофлори до
антибіотиків ще через 2-3 доби, де для розпізна-
вання неклостридіальної мікрофлори необхідний
посів на спеціальні біологічні середовища, з пев-
ним режимом культивування. Тому, з моменту пе-
ребування хворого в клініці до одержання даних,
щодо виду мікроорганізмів, їхньої чутливості до
антибіотика проходить 3-4 доби, а від того зазвичай
призначають препарат, до якого мікрофлора
може бути інтактною.

Інший спосіб лікування остеомієліту щелепи

включає видалення гнійних вогнищ під окістям і
комплексне антибактеріальне лікування тетраміці-
ном, лінкоміцином, морфоцикліном, оксациліном,
якими впливають внутрішньом'язовим, внутріш-
ньовенним, внутрішньоартеріальним, іноді паріє-
тальним чином на протязі 8-10 діб. При паренте-
ральному введенні разова доза лінкоміцину для
дорослих сягає - 0,6 г, якою впливають 3 рази на
добу, одночасно призначають сульфаніламідні
засоби (сульфадимезин, норсульфазол, етазол),
антигістаміни (димедрол, супрастин, тавегіл) [2].
Завдяки здатності лінкоміцину до накопичення у
кісткових тканинах спостерігають пригнічення гній-
ної інфекції. Однак, при наявності великих ділянок
патологічного ураження, омертвілих кісткових тка-
нин йому теж бракує ефективності, що може ініці-
ювати онтогенез онкологічних процесів. Це зумов-
лене недостатньою концентрацією антибіотиків на
ділянці запалення на тлі високої резистентності до
них з боку неклостридіальної мікрофлори, навіть
при застосуванні антибіотиків у максимальних до-
зах.

Тому для підвищення ефективності лікування
остеомієліту часто залучають додаткові профілак-
тичні заходи, у вигляді лімфотропного впливу ан-
тибактеріальними препаратами підшкірним чином,
наприклад, на ділянці сосцевидного відростка
скроневої кістки [3]. Проте при лікуванні хронічних
форм одонтогенного остеомієліту щелепи з вели-
кими ділянками омертвілих кісткових тканин цього
вельми недостатньо й лише здорожує лікування.

Більш наближених об'єктів аналогічного приз-

начення до дійсної корисної, які б збігалися з нею за більшою сукупністю ознак з досліджуваного рівня техніки не встановлено.

З аналізу властивостей вищенаведених аналогів й решти їм подібних впливає розмаїтість шляхів введення антибіотиків, серед яких найчастіше використовують внутрішньом'язовий, внутрішньовенний, пероральний доступи. При 2-х перших шляхах вони доставляються до вогнища з током крові, при останньому - переборюють тканинний бар'єр, після чого також попадають у запальне вогнище. Деяка частина антибіотиків дезактивується травними ферментами та ферментами печінки. Порушення мікроциркуляції у вогнищі запалення, особливо навколо омертвілих тканин щелепи, суттєво утрудняє їхній транспорт, стримує можливість їх максимального накопичення на патологічній ділянці. Це вимагає збільшення доз антибіотика, а відтак ініціює порушення біоценозу шлунково-кишкового тракту, функцій нирок і печінки, онтогенез кишкового дисбактеріозу, різноманітних алергічних реакцій тощо.

До основи розроблювальної корисної моделі поставлена задача винайти спосіб антибактеріального лікування хронічного одонтогенного остеомієліту щелепи, що включає видалення гнійних вогнищ і комплексну антибактеріальну терапію, відповідно до корисної моделі, що додатково здійснюють секвестректомію, вводять катетер у поверхневу скроневу артерію, через її зовнішній поверхневий відділ, і здійснюють через нього лімфотропну терапію, де як антибактеріальний препарат вводять аугментин, у кількості 1,2 г, двічі на добу, протягом тижня.

Рішення поставленої задачі досягається тим, що при використанні способу антибактеріального лікування хронічного одонтогенного остеомієліту щелепи, що включає видалення гнійних вогнищ і комплексну антибактеріальну терапію, відповідно до корисної моделі, що додатково здійснюють секвестректомію, вводять катетер у поверхневу скроневу артерію, через її зовнішній поверхневий відділ, і здійснюють через нього лімфотропну терапію, де як антибактеріальний препарат вводять аугментин, у кількості 1,2 г, двічі на добу, протягом тижня.

Причинно-наслідковий зв'язок сукупності ознак запропонованого рішення задачі з вищезазначеним технічним результатом полягає в наступному.

Аугментин (амоксиклав) являє собою комплекс амідопеніциліну (амоксициліну) та клавуланової кислоти [4], котрий добре всмоктується з просвіту шлунково-кишкового тракту. Найбільша концентрація його клавуланової кислоти у сироватці досягається вже через 40-60 хв. після перорального застосування. При внутрішньовенному введенні термін напівжиття препарату сягає 50-80 хв., клавуланової кислоти ~ 50-70 хв, а терапевтична концентрація зберігається впродовж ~ 8-9 год.

За результатами досліджень заявника було встановлено, що ін'єкції аугментину, наприклад у ліктьову вену, допускали його позитивні зсуви на нижчому порозі чутливості детектора рідинного хроматографа, а через 5 хв. після введення, концентрація аналізує вже піддавалась зчитуванню. Мікробіологічні дослідження ексудату з вогнищ гнійного запалення, де у ~ 88% випадків домінува-

ли неспороутворюючі анаеробні збудники у складі мікрофлори, а у ~ 81% - асоціації анаеробно-анаеробних і сполучення анаеробів і факультативно-анаеробних бактерій, дозволяли констатувати високу чутливість останніх до фармакінетики аугментину. Використання ж його у запропонованій дозі, саме при внутрішньо артеріальному впливі, істотно прискорювало появу у сироватці крові, яка відтікала від ураженої ділянки щелепи. Через 30 хв. після впливу, рівень аугментину після внутрішньоартеріального введення перевищував на 37% ($p > 0,05$) його внутрішньовенний вплив, і пропорційно збільшувався у м'язовій, жировій тканинах, шкіряних покривах, органах черевної порожнини, насамперед, у печінці, а також у інтерстиціальній рідині, що інформує про перевернення ефективності антибактеріальної терапії.

Тож, внутрішньоартеріальне введення аугментину при лімфотропній терапії у кількості 1,2 г, двічі на добу, протягом тижня прискорює появу антибіотика у значно більших кількостях крові, яка відтікає від ділянки секвестректомії, а поряд із цим, підвищує на ній антибактеріальну концентрацію. На погляд Заявника, подібний зсув зумовлений регіональним розподілом фармакопрепарату, включенням його у загальний кровообіг та захопленням клітинами системних органів і тканин, насамперед, нирок і печінки.

При вивченні властивостей відомих способів лікування хронічного одонтогенного остеомієліту щелепи не вдалося виявити серед них застосування аугментину, його дозового режиму і шляху введення у систему кровообігу.

Це дозволяє дійти висновку про те, що сукупність відмітних ознак заявленої корисної моделі, яка задіяна до вирішення поставленої задачі і реалізації технічного результату у запропонованому обсязі, є суттєвою, характеризує затребуваний обсяг правового захисту здійснюваного процесу як невідомий з рівня техніки, а від того, дозволяє його кваліфікувати «новим» і поширювати її на усі випадки багаторазової реалізації.

Сутність. Для забезпечення лімфотропної терапії остеомієліту певної ділянки щелепи залучають інфузор «LV-10 Intermate» фірми «Baxter» (США).

Спосіб лікування антибактеріального хронічного одонтогенного остеомієліту щелепи відтворюють після видалення гнійних вогнищ і видалення омертвілих тканин під час секвестректомії. Надалі вводять катетер у поверхневу скроневу артерію, а саме, через її зовнішній поверхневий відділ, і водночас розпочинають лімфотропну терапію через нього. Як антибактеріальний препарат вводять аугментин, у кількості 1,2 г, двічі на добу, протягом тижня.

Запропонованим чином підвищують швидкість появи і концентрації антибіотика на ділянці запалення, на 30-35% знижують частоту онтогенії післяперіодичних ускладнень, а відтак перевершують ефективність терапії зазначеної патології.

При експериментальній перевірці властивостей запропонованого способу лікування хронічного одонтогенного остеомієліту щелепи виявляли переваги внутрішньоартеріального введення аугмен-

тину над внутрішньовенним: Концентрації аугментину у сироватці крові при різних шляхах його введення (див. табл.).

Під час досліджень визначали зрушення концентрації аугментину в сироватці крові, що відтікає від нижньої щелепи хворого з боку локалізації вогнища патології, при традиційному внутрішньовенному та внутрішньоартеріальному введенні, в об'язі лімфотропної терапії.

Спостереження показали, що досліджувані шляхи введення аугментину призводять до істотних відмінностей вмісту аугментину в сироватці крові, що відтікає із зони остеомієліту. Головна відмінність полягала у появі аугментину у відтікаючій венозній крові вже через 5 хв. після введення у зовнішню сонну артерію, й більшої концентрації, ніж при внутрішньовенному введенні (табл.). Через півгодини від початку лімфотропної терапії вміст аугментину знижувався на 67,6% ($p < 0,05$), а через 24 години - ще на 26,3% ($p < 0,05$), у порівнянні з першим інтервалом. Інші зрушення рівня аугментину спостерігали при його ін'єкції у ліктьову вену. Через 5 хв. спостережень вміст антибіотика був нижче порога чутливості за методом рідинної хроматографії з мас-спектрометричною детекцією. Через 30 хв. концентрація аугментину сягала $2,59 \pm 0,08$ мкг/мол, що було найбільшим значенням у даній серії досліджень. Через добу від початку антибактеріальної терапії вміст досліджуваного фармакопрепарату вірогідно знижувався на 22,0%. Зіставлення концентрації аугментину при двох внутрішньосудинних шляхах впливу показує, що внутрішньоартеріальне введення приводить до прискореної появи аугментину в істотно більших дозах у сироватці крові, що відтікає від вогнища поразки. Через 30 хв спостережень рівень аугментину при внутрішньовенному введенні був нижче на 37,0% ($p < 0,05$), а через 24 год - на 33,3% ($p < 0,05$).

Таким чином, внутрішньоартеріальне введення аугментину при лімфотропній терапії забезпечує більш швидку його появу у значно більших кількостях у крові, що відтікає від вогнища поразки, що, очевидно забезпечує підвищену антибактеріальну концентрацію. Подібні зміни обумовлені регіональним розподілом фармакопрепарату, включенням його у загальний кровообіг і захопленням клітинами різних органів і тканин, у першу чергу, нирок і печінки.

За цих умов досягають зниження частоти виникнення післяопераційних ускладнень на - 30-35%.

Поряд із цим, була проведена формалізація фармакокінетики аугментину при різних шляхах введення, розраховані рівняння тренда, визначені значення коефіцієнта детермінації, побудовані графіки тренда, що описують кінетичні властивості аугментину, і встановлені розходження між двома способами застосування досліджуваного антибактеріального препарату.

Для оцінки сили зв'язку між математичною моделлю й експериментально встановленою концентрацією аугментину використали шкалу Чеддока. Отримані за методами найменших квадратів рівняння Тренда для внутрішньовенного й внутріш-

ньоартеріального шляхів введення аугментину мали для них, відповідно, наступні види:

$$C = 0,766 \cdot \ln(t) + 0,41$$

$$C = 13,574 \cdot t^{-0,23}$$

де C - концентрація аугментину (мкг/мол), t - час, що минув після введення аугментину, \ln - натуральний логарифм функції (t).

Математична обробка результатів досліджень інформує про те що, при запропонованому способі застосування, фармакокінетика аугментину підкоряється моделі поглинання, з коефіцієнтом детермінації $\sim 0,35$ при помірному зв'язку.

Співвідношення концентрацій аугментину, які притаманні внутрішньовенному та внутрішньоартеріальному шляхам його введення наведені на графіках (див. фіг. 1, 2).

Зіставлення результатів формалізації фармакокінетики аугментину при внутрішньовенному та внутрішньоартеріальному шляхах введення дозволяє констатувати апроксимацію розрахованих і експериментальних значень як задовільну. Відносний ступінь біологічної доступності препарату після внутрішньоартеріального використання склав 160,6%. Це означає, що у порівнянні з внутрішньовенним використанням, внутрішньоартеріальне введення препарату перевищує його концентрацію у вогнищі запалення у 2,5 рази.

Приклад. Хворий В., 1962 р.н., перебував у міському хірургічному Центрі патології голови й шиї міської багатопрофільної клінічної лікарні № 4 м. Дніпропетровська з приводу лікування хронічної стадії одонтогенного остеомієліту правої половини нижньої щелепи, деструктивно-секвеструючої форми (і/х. № 5722).

До початку лікування: у хворого визначили тестоватий, помірковано хворобливий набряк розміром 3×2 см на правій підщелепній ділянці. Шкіра над набряком помірковано гіперемована, збирається у складку. У центрі утягнений свищ із убогим гнійним відокремлюваним жовтуватого кольору. Рот відкривається на 2 см. Слизова перехідної складки правої половини нижньої щелепи набрякла, гіперемована. За ортопантомограмою у правій половині нижньої щелепи визначається перебудова структури ділянки кісткової тканини, з наявністю секвестру розміром 3×2 см.

Лікування: секвестректомія правої половини нижньої щелепи під наркозом, катетеризація правої зовнішньої сонної через поверхневу скроневу артерію. Регіонарна внутрішньоартеріальна лімфотропна терапія за допомогою інфузора «LV-10 Intermate» фірми «Baxter» протягом 5 днів. Інфузат: 1,2 г ($\frac{1}{2}$ добової дози) аугментину, 2 мл супрастину, як десенсибілізуючого засобу, 10000 ОД контрикалу, як інгібітора протеолітичних ферментів, 5000 ОД гепарину, як прямого антикоагулянту. Основу інфузату складав розчин Рінгера-Локка, як електролітна модель сироватки крові.

Через інфузор, що був задіяний для лімфотропної терапії, відбирали зразки тканин, піддавали їх параклінічному дослідженню, вимірювали концентрації аугментину, контролювали видужання.

За даними вимірів: концентрації аугментину в сироватці крові, яка відтікала від вогнища поразки, становили через 5, 30 хв. і 24 год 16,22, 4,01 і 2,82

мкг/мл, відповідно.

Результати лікування: запальні явища локалізовані, рана зажила первинним натягом, відкривання рота в повному обсязі, набряк розсмоктався, лабораторні аналізи в межах норми. Для закінчення реабілітаційних заходів хворого перевели на амбулаторне лікування у задовільному стані. Через 12 міс. спостерігали відсутність післяопераційних ускладнень.

Таким чином, запропоноване рішення задачі відповідає умові «промислова придатність», як

таке що може бути відтвореним і використаним у хірургічній стоматології або щелепно-лицьовій хірургії, з можливістю перевернення вищенаведеного технічного результату, за допомогою продуктів, які стали відомі за подією пріоритету й поєднані з рішенням поставленої задачі. Поряд із цим, характеристика заявленого способу за Формулою визначає межі його відмінностей від прототипу, що допускає набуття ним правового статусу як корисної моделі процесу.

Таблиця

Концентрації аугментину у сироватці крові при різних шляхах його введення

Шляхи введення аугментину	Статистичні показники	Концентрації аугментину (мг/мл) у сироватці крові, після введення		
		через 5 хв	через 30 хв	через 24 год
Внутрішньовенний	M	0,00	2,59	* 2,02
	±m	0,00	0,08	0,06
Внутрішньоартеріальний	M	12,68	** 4,11	** 3,03
	±m	1,77	0,12	0,21

* $p < 0,05$ у порівнянні із внутрішньовенним шляхом введення;

** $p < 0,05$ у порівнянні з попереднім інтервалом часу.

Аналоги:

1. Спосіб лікування остеомієліту щелепи: Пат. 19647 А України, МПК А61С 8/00, А61Н 39/00, А61К 6/00 / Мокрик О.Я., Готь І.М. (Україна); Львівський державний медичний інститут (Україна). - № 96020422; заявл. 05.02.96; опубл. 25.12.97.

2. Хирургическая стоматология, под ред. проф. Т.Г. Робустовой. М.: Медицина, 1990 г. - с. 187.

3. Способ профилактики инфекционно-воспалительных осложнений при открытых переломах нижней челюсти: Пат. 2174413 России, МПК А61М5/00, А61В17/24 / Соловьев М.М., Яременко

Н.В., Яременко А.И., Арбузов А.И. (Россия); С-Пб. гос. мед. ун-т им. И.П. Павлова (Россия). - № 2000133384/14; заявл. 29.12.00; опубл. 10.10.01.

4. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. М.: ОВРЕ-Астра-ФармСервис, 2000. - С. 1408.

5. Рачина С.А., Фокин А.А., Ишмухаметов А.Л. и соавт.. Анализ динамики поквартального потребления антибактериальных препаратов для системного применения в амбулаторном и госпитальном секторах в РФ в 2004 году // Ремедиум. - 2006. - № 11. - С. 24-29.



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **60146** (13) **U**
(51) МПК (2011.01)
A61B 5/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ТЕСТУВАННЯ НАБУТИХ УМОВНИХ РЕАКЦІЙ ТА ІНСТІНКТИВНОЇ ПОВЕДІНКИ У ЩУРІВ

1

2

(21) u201014308

(22) 30.11.2010

(24) 10.06.2011

(46) 10.06.2011, Бюл.№ 11, 2011 р.

(72) ТУРЧИН ОЛЕКСАНДР ЛЕОНІДОВИЧ, ДЗЯК
ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, ВЯТКІН ОЛЕКСАНДР КО-
СТЯНТИНОВИЧ, ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДО-
ВИЧ, СЕЛЕХ ОЛЕКСІЙ ПЕТРОВИЧ, АЛНУКАРІ
АБДУЛ КАРІМ

(73) ТУРЧИН ОЛЕКСАНДР ЛЕОНІДОВИЧ, ДЗЯК
ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, ВЯТКІН ОЛЕКСАНДР КО-
СТЯНТИНОВИЧ, ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДО-
ВИЧ, СЕЛЕХ ОЛЕКСІЙ ПЕТРОВИЧ, АЛНУКАРІ
АБДУЛ КАРІМ

(57) Спосіб тестування набутих умовних реакцій та
інстинктивної поведінки у щурів, який характеризу-
ється тим, що включає формування пасивної умо-

вно-захисної реакції за допомогою ноцицентивного
подразника та використання лабіринту, камери
котрого зв'язані між собою напівкруглим отвором і
відрізняються розмірами, освітлення більшої та
затемнення меншої за розмірами камер, підведен-
ня через 15 с електричного струму на електрифі-
ковану підлогу затемненої камери, близького за
амплітудою до порогу больової чутливості, розмі-
щення щура у тотожному лабіринті через 15 хв.,
стілки котрого пофарбовані контрастніше, ніж у
попередньому, та констатацію вироблення умов-
ної пасивно-захисної реакції, якщо протягом 3 хв.
щур не переходив у затемнену камеру меншого
розміру, та наявності інстинктивної захисної пове-
дінки щура, при його проникненні до затемненої
камери меншого розміру у тотожному лабіринті, як
факту появи латентного періоду.

Корисна модель належить до медицини, зокрема, до визначення, виміру або реєстрації з діагностичною ціллю, та може бути використаною в фізіо-, фармакології та інших галузях теоретичної медицини та/або біологічних наук.

При експериментальному дослідженні процесів навчання, а також структури та механізму функціонування пам'яті, розкриття яких має істотне значення для розвитку сучасної медицини, використовуються умовні реакції активного й пасивного уникнення тварини [1]. Формування енграм пам'яті під час навчання останніх призводить до утворення нових синаптичних зв'язків між структурами головного мозку, які приймають участь в реалізації поведінкових актів [2, 3]. При оцінці умовних реакцій пасивного уникнення (УРПУ) тварин звичайно застосовують візуалізацію поведінки та хронометраж, як показники формування структурно-функціональних реакцій та оцінки умовних пасивно-захисних реакцій [4].

Дотепер співвідношення між вищезазначеними індивідуально-набутими формами досвіду та генетично дотерміновими формами поведінки або інстинктів залишаються не визначеними [5, 6].

До основи дійсної корисної моделі поставлена задача винайти спосіб тестування набутих умов-

них реакцій та інстинктивної поведінки у щурів, застосування котрого сприяло б, на основі формування захисної інстинктивної поведінки, реалізації конкретних перебігів нервових процесів, в межах прийнятної об'єктивності.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб тестування набутих умовних реакцій та інстинктивної поведінки у щурів, відповідно до корисної моделі, включає формування пасивної умовно-захисної реакції за допомогою ноцицентивного подразника та використання лабіринту, камери котрого зв'язані між собою напівкруглим отвором і відрізняються розмірами, освітлення більшої та затемнення меншої за розмірами камер, підведення через 15 с. електричного струму на електрифіковану підлогу затемненої камери, близького за амплітудою до порогу больової чутливості, розміщення щура у тотожному лабіринті через 15 хв., стінки котрого пофарбовані контрастніше ніж у попередньому, та констатацію вироблення умовної пасивно-захисної реакції, якщо протягом 3 хв. щур не переходив у затемнену камеру меншого розміру, та наявності інстинктивної захисної поведінки щура, при його проникненні до затемненої камери меншого розміру у тотожному лабіринті, як факту появи латентного періоду.

На погляд Заявника, причинно-наслідковий зв'язок сукупності запропонованих ознак з реалізацією вищезазначеного технічного результату полягає в наступному.

Використання лабіринту з освітленою і затемненою камерами різних розмірів, у т.ч. й тотожного лабіринту, стінки котрого пофарбовані контрастніше ніж у попередньому лабіринті формують у щура реакцію умовного подразнення як у нічної тварини, яка, користуючись інстинктом, живе в норах і віддає перевагу темряві, а пересуваючись кризь напівкруглий отвір лабіринту спмагається знайти більш безпечну середу існування.

Підведення електричного струму, близького за амплітудою до порогу больової чутливості щура, на електрифіковану підлогу затемненої камери, переважно, через 15 с. після його адаптації, формують реакцію безумовного (електробольового) подразника, примушуючи щура вибігати в освітлену камеру та знаходитись в ній всупереч інстинкту. Електричний струм викликає судому, приводить до ретроградної втрати умовної-пасивно-захисної реакції, приблизно у третини щурів.

Для визначення наявності інстинктивної захисної поведінки щура (відходу зі світла до затемненого отвору), переважно, через 15 хв. після впливу електробольовим подразником, залучають тотожний лабіринт зі стінками, профарбованими контрастніше ніж у попередній середі його перебування.

Кінцевим продуктом пропонованого способу є техніка впливу на свідомість лабораторних тварин, що націлена на реалізацію набуття різних форм індивідуального досвіду та генетично дотермінованих форм поведінки або інстинктів: констатацію вироблення умовної пасивно-захисної реакції, якщо протягом 3 хв. щур не переходив у затемнену камеру меншого розміру, та наявності інстинктивної захисної поведінки щура, при його проникненні до затемненої камери меншого розміру у тотожному лабіринті, як факту появи латентного періоду.

Це дозволяє дійти висновку про те, що сукупність ознак заявленої корисної моделі, яка задіяна до вирішення поставленої задачі і реалізації технічного результату, є суттєвою у запропонованому обсязі і характеризує обсяг його правового захисту як невідомий з рівня техніки, а від того, дозволяє його кваліфікувати «новим» і поширювати її на усі випадки багаторазової реалізації.

Дані апробації способу тестування набутих умовних реакцій та інстинктивної поведінки у щурів наведені у табл. 1 (Результати одночасного виміру збереження умовної пасивно-захисної реакції та інстинктивної поведінки щурів на фоні попередньої дії електрошоку), табл.2 (Результати визначення стану УРПУ та інстинктивної поведінки щурів).

Із табл. 1 видно, що процедура навчання істотно впливає на прояви інстинктивної поведінки у щурів. Наразі у 47,5% особин через 30 хвилин після навчання, в аналогічних умовах тестування, вона була пригнічена, тобто навчаючий електробольовий подразник тимчасово зменшував прояви ІП. Більш складними були зміни співвідношення безумовних та індивідуально-набутих рефлексів після впливу електрошоку (табл. 2). З наведених

даних видно, що тільки у 13,4% щурів, що не заходили до "оманної" нірки був відсутнім норковий рефлекс. В той же час, при використанні електрошокового впливу для перевірки пропонуемого способу тестування поведінкових реакцій тварин, у 44,5% особин, що втратили умовну навичку, був наявним захисний інстинкт. Тоді, як у 13,0% щурів, що переходили до затемненої камери, він, навпаки, був відсутнім.

Наведені факти свідчать про те, що пропонуемый спосіб в досліді на одній тварині дозволяє визначити стан як інстинктивної поведінки, так і індивідуально отриманого досвіду та оцінити їхні зміни та співвідношення залюбих умов.

Сутність. Спосіб тестування набутих умовних реакцій та інстинктивної поведінки у щурів складається з виробки у них пасивної умовно-захисної реакції з ноцицентивним подразником в лабіринті, камери котрого зв'язані між собою напівкруглим отвором і відрізняються розмірами, більшу з яких освітлюють, а меншу затемнюють. Під час обстеження освітленої камери, більшої за розмірами, щур знаходить отвір і переходить до темряви, тобто до затемненої камери, меншій за розмірами, користуючись інстинктом нічної тварини, яка існує в норах. Через 15 с. на електрифіковану підлогу темної камери лабіринту подають електричний струм, рівний порогу больової чутливості, що примушує щура вибігати до освітленої камери більшого розміру та знаходитись в ній всупереч інстинкту. Якщо протягом 3 хв. щур не спмагається перейти до темряви, то умовну пасивно-захисну реакцію вважають виробленою, завдяки реакції на умовний (вигляд камери) та безумовний (електробольовий) подразники. Для визначення наявності інстинктивної захисної поведінки (переміщення зі світлої до затемненої камери), через 15 хв. тварину розміщують у тотожному лабіринті, стіни котрого пофарбовані контрастніше ніж у попередньому середовищі мешкання. Вироблення умовної пасивно-захисної реакції констатують, якщо щур протягом 3 хв. не переходив у затемнену камеру меншого розміру, а наявність інстинктивної захисної поведінки щура - при його проникненні до затемненої камери меншого розміру у тотожному лабіринті, як факту появи латентного періоду.

Для наступних тестувань інстинкту залучають лабіринти, в яких щур перебував лише один раз.

Приклад. УРПУ визначали за методикою J.Bures та інш. [4], на основі одноразового електрошкіряного підкріплення. Експериментальний лабіринт складався з двох камер, поєднаних між собою округлим отвором: великої освітленої та маленької затемненої, з електрифікованою підлогою. Для виробітки умовної реакції щура садили у центр великої камери хвостом до отвору іншої камери. Досліджуючи освітлений простір, тварина знаходила отвір у темну камеру та потрапляла до неї. Латентний період дорівнювався терміну, який тривав з моменту потрапляння щура у лабіринт, вкрай до його проникнення у затемнену камеру. Через 15 с. на електрифіковану підлогу подавали імпульс електричного перемінного струму з амплітудою до 2-3 В, тривалістю 10 мс. Отвір між камерами залишали відкритим. Перебіг щура до світлої

камери спостерігали 3 хв. Констатували вироблення щуром УРПУ, оскільки протягом 3 хв. він не переходив у затемнену камеру меншого розміру. Через 15 хв. його розміщували в лабіринті, стінки котрого були пофарбовані контрастніше ніж у попередньому пристрої. Встановили придбання навички інстинктивної захисної поведінки при проникненні до затемненої камери меншого розміру у тототному лабіринті.

Щурів з виробленою УРПУ саджали у клітку, де вони перебували у звичайних умовах. Через 2

години, після появи пасивно-захисних навичок, їх піддавали електрошoku (20 мА, 500 мс), накладаючи електроди на вушні раковини. Через 72 години, коли рухливість навчених щурів відновлювалась, перевіряли у них збереження умовних реакцій. За результатами перевірки виділяли щурів у групи: з амнезією навичок (~30%) і зі збереженою реакцією (~70%) для їх використання у більш високих дослідах.

Таблиця 1

Результати визначення стану УРПУ та інстинктивної поведінки щурів

Статистичні показники	Кількість тварин	ЛП НР, сек	ІПЗ, %	ЛП ІП, сек
M	80	16,47	47,5	19,90
±m		2,75		3,73

* Примітки: ЛП НР - латентний період норкового рефлексу;

ІПЗ - інстинктивна поведінка; ЛП ІП - латентний період інстинктивної поведінки

Таблиця

Результати одночасного виміру збереження умовної пасивно-захисної реакції та інстинктивної поведінки щурів на фоні попередньої дії електрошоку

Статистичні показники	Кількість тварин	Нам, %	Нам ІПЗ, %	ЛП ІП, сек	Нам ІПВ, %	Ам ІПЗ, %	ЛП УРПУ, сек	ЛП ІП	Ам ІПВ, %	ЛП УРПУ
M	80	42,5	13,4	12,38	29,2	44,5	37,6	30,84	13,00	41,91
±m				3,64				7,75	2,50	14,23

* Примітки: Нам - доля щурів, яка зберегла УРПУ після електрошокового впливу; Нам ІПЗ - кількість тварин, яка зберегла УРПУ після дії електроструму, з наявністю інстинктивної поведінки; Нам ІПВ - особини, які володіють УРПУ, але втратили ІП; Ам - кількість щурів, які під впливом електрошоку втратили УРПУ; Ам ІПВ і Ам ІПЗ - частки серед них відповідно із збереженою та втраченою поведінкою; ЛП УРПУ, ЛП ІПЗ - латентні періоди реалізації поведінкових реакцій відповідних груп

Джерела інформації:

1. Herrenstein, R.J. Method and theory in the study of avoidance. Psychol. Rev., 1969, P. 49-69.
2. Ройтбак А.И. Нейроглия и образование новых нервных связей в коре мозга. - Кн.: Механизмы формирования и торможения условных рефлексов. М.: Наука. 1973, С. 82-94.
3. Fuchs E., Weber K. Intermediate filament: structure, dynamics, function and disease // Ann. Rev. Biochem. - 1994. - V.63. - P. 345-382.
4. Буреш Я., Бурешова О. и Хьюстон П.Дж. Методики и основные эксперименты по изучению

мозга и поведения, «Высшая школа», Москва, 1991. - С. 175-209.

5. Иоффе М.Е. О роли ядра двигательного анализатора в осуществлении локальных пищевых двигательных условных рефлексов у собак // Докл. АН СССР. 1961. Т. 139. №1. С. 242-244.

6. Калужный Л. В., Литвинова С. В., Иноземцева А. Н. и др. Действие нейротропина на процессы условно-рефлекторного избегания у крыс. // Biological Psychiatry. - 1995.- Vol. 38, №7. -P. 475-481.



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **60646** (13) **U**
(51) **МПК (2011.01)**
A61B 5/0484 (2006.01)
A61K 31/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ФОРМУВАННЯ ЕКВІВАЛЕНТА ПСИХОТИЧНОГО СТАНУ У ТВАРИН

1

(21) u20101014312

(22) 30.11.2010

(24) 25.06.2011

(46) 25.06.2011, Бюл.№ 12, 2011 р.

(72) ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, КУШНІР
АНАТОЛІЙ МИКОЛАЙОВИЧ, КОШЕЛЄВ ОЛЕГ
СТАНІСЛАВОВИЧ, ХАРАПОНОВА ОЛЕНА БОРИ-
СІВНА, АЛ НУКАРІ АБДУЛКАРІМ, АЛЬ НАСИР
ЕЙЯД

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА
АКАДЕМІЯ

2

(57) Спосіб формування еквівалента психотичного стану у тварин, що включає ініціацію розладів нервової діяльності шляхом введення психотропного препарату з заданим інтервалом часу, який **відрізняється** тим, що як психотропний препарат використовують сиднокарб - похідне сиднониміну, який перед формуванням еквівалента психотичного стану розчиняють у 1 % крохмальному слизі, у співвідношенні 1:40, відповідно, а ініціацію розладів нервової діяльності здійснюють шляхом введення 2-50 мг/кг цієї суспензії до шлунка, протягом 14 діб з інтервалом у 6-8 годин.

Корисна модель належить до медицини, а саме до визначення, виміру або реєстрації для діагностичних цілей, здебільшого з викликом відповідної реакції, і може бути використана в експериментальній медицині, теоретичній психології та у пошуках антипсихотичних лікарських засобів.

Відомий спосіб формування еквівалента психотичного стану у тварин, що включає ініціацію розладів нервової діяльності шляхом введення психотропного препарату з заданим інтервалом часу, а саме, апоморфіну гідрохлориду, як похідного морфіну [1].

Еквівалент «апоморфінової стереотипії», що досягається при здійсненні згаданого способу, характеризується близькістю нейрохімічних механізмів, включаючи і специфічну активацію ауторецепторів дофамінергічних нейронів та їх постсинаптичних дофамінових рецепторів низки структур головного мозку, з механізмами розладів психічної діяльності людини під час деяких психозів [2].

Хоча наданому об'єкту властива простота виконання, використання апоморфіну гідрохлориду обмежує термін впливу на центральну нервову систему [3], внаслідок швидкого розчинення та руйнування в шлунку. Перш за все це зумовлене його фармакологічними та фізико-хімічними властивостями, апоморфіну гідрохлорид являє собою нестійку, особливо у розчинах, сполуку, що вису-

ває особливі вимоги до умов його зберігання та використання.

Апоморфін гідрохлориду у наш час практично не виготовляють, що створює додаткові незручності в здійсненні способу.

До основи корисної моделі поставлена задача винайти спосіб формування еквівалента психотичного стану у тварин, застосування котрого сприяло б, внаслідок впливу на норадренергічні структури мозку та застосування засобу з достатньо високою фармакологічною активністю, підвищенню терміну впливу на центральну нервову систему.

Вищезазначений технічний результат досягається тим, що при використанні відомого способу формування еквівалента психотичного стану у тварин, що включає ініціацію розладів нервової діяльності шляхом введення психотропного препарату з заданим інтервалом часу, відповідно до корисної моделі, як психотропний препарат використовують сиднокарб - похідне сиднониміну, який перед формуванням еквівалента психотичного стану розчиняють у 1% крохмальному слизі, у співвідношенні 1:40, відповідно, а ініціацію розладів нервової діяльності здійснюють шляхом введення 2-50 мг/кг цієї суспензії до шлунка, протягом 14 діб з інтервалом у 6-8 годин.

Сиднокарб належить до основних клінічно вживаних психотропних речовин і раніше для формування еквівалента психотичного стану тварин не застосовувався. За власною хімічною будовою

він подібний фенаміну, як психомоторному стимулятору з групи фенілалкіламінів. Від останнього сиднокарб відрізняється меншою токсичністю, активністю стимулюючого впливу на центральну нервову систему та зниженою периферичною симпатоміметичною дією, що сприяє підвищенню терміну впливу на центральну нервову систему. До того ж, сиднокарб здатний зменшувати побічні ефекти, які спричинені використанням психотропних засобів пригнічуючого типу дії, зокрема бензодіазепінами [4].

За нейрохімічним впливом на центральну нервову систему сиднокарб відрізняється як від апоморфіну, так і від фенаміну. Експериментальні дані свідчать про активність його впливу на норадренергічні структури мозку, у той час як фенамін, а особливо апоморфін, відзначаються потужним дофамінергічним впливом, що істотно сприяє посиленню технічного результату.

Отже, сиднокарб у тому вигляді, що заявлений у формулі корисної моделі, забезпечує ініціацію психотичного еквівалента, підтримує або підсилює психопатологічні порушення діяльності центральної нервової системи, з досягненням заявленого технічного результату, який полягає у підвищенні терміну впливу на центральну нервову систему у 3-4 рази.

Введення сиднокарбу у вигляді суспензії на 1% крохмальному слизу пролонгує психотропну дію, завдяки подовженню часу його розчинення і всмоктування в шлунку. Дозовий режим введення суспензії, а саме по 2-50 мг/кг протягом 14 діб з інтервалом у 6-8 годин, як і концентрація сиднокарбу у крохмальному слизі вважаються оптимальними для отримання максимального ефекту. Зменшення наданих параметрів, разом із скороченням терміну впливу, знижує інтенсивність впливу на структури мозку, а завищення - стає чинником за надто високої подразливості тварини та її психопатологічної симптоматики.

Крім того, сиднокарб добре зберігається, у тому числі, і в розчинах, належить до тих, що достатньо виробляються промисловістю фармакологічних препаратів.

Від так, сукупність ознак дійсної корисної моделі є суттєвою, оскільки має причинно-наслідковий зв'язок з очікуваним технічним ре-

зультатом. Крім того, наведені твердження інформують про те, що спосіб формування еквівалента психотичного стану у тварин відповідає критерію об'єкта «новизна», адже він не впливає з рівня техніки явним чином.

Відомості, що підтверджують можливість здійснення заявленого об'єкта з досягненням вищезазначеного технічного результату, полягають в наступному.

Для здійснення способу залучають дорослих білих щурів, переважно самців лінії Вістар. Перед ініціацією психотичного еквівалента на 1% крохмальному слизі виготовляють сиднокарбову суспензію шляхом змішування компонентів у співвідношенні 1:40. Як вже підкреслено, зміна кількості сиднокарбу у суспензії - недоцільна. Психотичний еквівалент ініціюють шляхом внутрішньошлункового введення отриманої суспензії крізь зонд. Для одноразового впливу її вводять по 2-50 мг/кг протягом 14 діб, з інтервалом у 6-8 годин. Здійснення способу у наданому вигляді дозволяє пролонгувати вплив на центральну нервову систему у 3-4 рази по відношенню до прототипу.

Приклад. Для перевірки вищезазначеного технічного результату було поставлено експеримент.

У групі дорослих білих щурів (самців) лінії Вістар психотичний еквівалент ініціювали шляхом введення сиднокарбової суспензії до шлунка, по 25 мг/кг протягом 14 діб, з інтервалом у 7 годин. До отримання еквіваленту психотичного стану, суспензію виготовляли заздалегідь шляхом змішування сиднокарбу з 1% крохмальним слизом, у співвідношенні їх масових частин 1:40, відповідно. Стан центральної нервової системи у вихідному періоді та на 3-й, 7-й та 14-й добі курсового введення сиднокарбу досліджували за основними показниками поведінкової активності, в т.ч. горизонтальної та вертикальної рухової активності, тривалості ґрумінгу, кількості болюсів дефекації, обстежених норок, вимірювали рівень агресивності тварин, спостерігаючи зміни порогу електрошкірного подразнення, яке викликало ознаки агресивної поведінки досліджуваної пари тварин. Вплив підгострого введення сиднокарбу на показники поведінкової активності білих щурів у порівнянні з вихідним фоном ($p < 0,05$) надані у таблиці.

Таблиця

№ п/п	Серії дослідів (число щурів)	Статистичні показники	Горизонтальна рухова активність		Вертикальна рухова активність		Тривалість ґрумінгу (сек)		Кількість болюсів дефекації		Кількість обстежених норок		Поріг електрошкірного подразнення
			A) ₁	B) ₂	A) ₁	B) ₂	A) ₁	B) ₂	A) ₁	B) ₂	A) ₁	B) ₂	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	Вихідний фон	M	14,96	1,8	1,43	64,2	12,00	19,6	2,05	42,9	2,86	21,4	39,35
		±m	1,35		0,41		1,81		0,29		0,35		1,30
2	3 доба	M	29,56*	0	1,00	58,3	7,98	47,9	1,96	37,5	2,06	41,7	33,33*
		±m	3,07		0,24		1,70		0,31		0,39		1,60
3	7 доба	M	32,58*	0	0,50	70,8	9,25	37,5	2,04	45,8	4,50	16,6	31,69*
		±m	3,84		0,22		2,58		0,45		0,81		2,15
4	14 доба	M	57,86	0	1,36	59,1	1,00*	90,9*	2,77	18,2	4,27	27,3	30,44*
		±m	5,21		0,56		0,72		0,44		1,04		1,02

Отримані результати свідчать про те, що курсове внутрішньошлункове введення сиднокарбової суспензії протягом 14 діб у сумарній добовій дозі 25 мг/кг призводить до розвитку комплексу істотних порушень діяльності центральної нервової системи досліджуваних тварин зі зміною поведінкової активності та підвищенням ступеню агресивності, що за сукупністю поведінкових ознак, основними нейрохімічними та патогенетичними механізмами являють сформовану модель психотичного стану в умовах експерименту. При цьому, порівняння запропонованого рішення задачі з прототипом дозволило реалізувати підвищення терміну впливу сиднокарбової суспензії на центральну нервову систему майже у 3-4 рази.

Тож, заявлений об'єкт в умовах експериментальної медицини, теоретичної психології та у пошуках антипсихотичних фармакопрепаратів спроможний до формування моделі психотичного стану, яка за сукупністю поведінкових ознак та спільністю основних патогенетичних механізмів еквівалентна тяжким порушенням психічної діяльності людини. Технічний результат, що досягається при використанні корисної моделі, зв'язаний з пролонгацією впливу на норадренергічні структури мозку центральної нервової системи, переважно

за рахунок використання сиднокарбу у вигляді суспензії, що забезпечує більш тривалий фармакологічний ефект. Спосіб сприяє подальшому використанню тварин, що набули стійкого еквіваленту психотичного стану в експериментальних дослідженнях під час оцінки нових психотропних засобів, зокрема нейролептиків, транквілізаторів, антидепресантів, що дозволяє вважати його ощадливим.

Отже, розроблене рішення задачі відповідає умові «промислової придатності».

Джерела інформації:

1. Морозов Г.В., Панченко Л.Ф., Анохина И.П. и др. Влияние апоморфина на опиатные рецепторы головного мозга крыс // Бюл. эксп. биол. и мед. - 1980. - №9. - С.566-568.
2. Адамсоо А.М., Васар Э.Э. Действие апоморфина у больных шизофренией, в кн.: Механизм действия психотропных веществ. - Тарту, 1982. - С.65-71.
3. Машковский М. Д. Лекарственные средства: в 2т. Т.1. - М.: 2000. - С.124-125.
4. Валуева Л.Н., Тожданова Н.М. Коррекция сиднокарбом побочного действия транквилизаторов бензодиазепинового ряда // Журн. неврол. и психиатр. - 1982. - №8. - С.1212-1217.



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **60647** (13) **U**
(51) МПК (2011.01)
G01N 33/00
G01N 33/48 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ФРАКЦІЙ ЛІПОПРОТЕЇНІВ

1

(21) u201014314

(22) 30.11.2010

(24) 25.06.2011

(46) 25.06.2011, Бюл.№ 12, 2011 р.

(72) ДЗЯК ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, ДРОЗДОВ
ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, БІЛОЗУБ ВОЛОДИМИР
ВОЛОДИМИРОВИЧ, КУДЕЛЯ ІГОР ВОЛОДИМИ-
РОВИЧ, ХАРАПОНОВА ОЛЕНА БОРИСІВНА(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА
АКАДЕМІЯ(57) Спосіб визначення фракцій ліпопротеїнів, що
включає забір проби крові натще, відділення сиро-

2

ватки від суспензії еритроцитів шляхом центрифугування проби при 1,5-3,0 тис. об/хв., обробку сироватки розчином судану Б у термостаті при t° - 40 $^{\circ}$ C впродовж години, внесення суміші в лунку з гелю агарози, електрофоретичний вплив, фіксацію електрофореграм, висушування та денситометрію, який **відрізняється** тим, що додатково перед обробкою сироватки суданом Б до 0,3 мл сироватки додають 0,2 мл 0,05 % розчину детергенту тритону X-100, інкубують суміш впродовж 15 хв. при t° - 20 $^{\circ}$ C і перемішують.

Корисна модель належить до дослідження матеріалів, переважно, біологічних, наприклад, крові, і може бути використаною в лабораторній практиці медичних установ.

Відомий спосіб визначення фракцій ліпопротеїнів (ЛП) крові, що включає розділення проби крові на фракції в гелі агарози електрофоретичним шляхом [пат. 2102767 РФ, від 20.01.1998]. Недоліком відомого технічного рішення є визначення обмеженої кількості фракцій ЛП.

Більш наближеним за кількістю істотних ознак серед об'єктів аналогічного призначення до корисної моделі, що заявляється, є спосіб визначення фракцій ЛП, що включає забір проби крові натще, відділення сироватки від суспензії еритроцитів шляхом центрифугування проби, її обробку розчином судану Б у термостаті при t° - 40 $^{\circ}$ C впродовж години, внесення суміші в гелієву лунку агарози, електрофоретичний вплив, фіксацію електрофореграм, висушування та денситометрію [пат. 2200950 РФ, від 20.03.2003]. Проте, наведеному прототипу бракує точності із-за недостатньої чутливості до мінорних фракцій ЛП.

До основи корисної моделі, що заявляється, поставлена задача винайти спосіб визначення фракцій ліпопротеїнів, застосування котрого сприяло б шляхом посилення чутливості до їх мінорних фракцій збільшенню точності.

Вищезазначений технічний результат досягається тим, що при використанні у відомому способі визначення фракцій ліпопротеїнів, що включає

забір проби крові натще, відділення сироватки від суспензії еритроцитів шляхом центрифугування проби при 1,5-3,0 тис. об/хв., обробку сироватки розчином судану Б у термостаті, при t° - 40 $^{\circ}$ C впродовж години, внесення суміші в лунку з гелю агарози, електрофоретичний вплив, фіксацію електрофореграм, висушування та денситометрію, відповідно до корисної моделі, додатково перед обробкою сироватки суданом Б, до 0,3 мл сироватки додають 0,2 мл 0,05 % розчину детергенту тритону X-100, інкубують суміш впродовж 15 хв. при t° - 20 $^{\circ}$ C і перемішують.

Додаткова інкубація 0,3 мол проби сироватки крові з 0,1 мол 0,1 % розчину детергенту тритону X-100 при t° 20 $^{\circ}$ C впродовж 15 хв. і перемішування суміші істотно поліпшує виявлення мінорних фракцій ЛП.

Тож, сукупність запропонованих відмінних ознак заявленої корисної моделі, задіяних до вирішення поставленої задачі і досягнення технічного результату, є суттєвою, характеризує затребуваний обсяг правового захисту здійснюваного процесу, характеризує його «новим» і поширюється на усі випадки його багаторазового використання.

Сутність. Після забору проби крові натще та відділення сироватки від суспензії еритроцитів шляхом центрифугування при 1,5-3,0 тис. об/хв., для посилення чутливості ЛП до мінорних фракцій, а відтак і збільшення точності, до 0,3 мл сироватки додають 0,2 мл 0,05 % розчину детергенту тритону

X-100, інкубують суміш впродовж 15 хв. при t° - 20°C і перемішують в умовах механічного струшування на лабораторному обладнанні для готування реактивів. Надалі, до суміші додають 0,15 мл розчину судану Б, завантажують їх у термостат при t° - 40°C , а через годину додають ще 0,2 мл гарячого розчину гелю агарози, змішують їх, підігрівають до t° - 55°C і вносять у гелієву лунку агарози ($4 \times 20 \times 10$ мм). Предметне скло завантажують у електрофоретичну камеру, а електрофорез проводять у холодильній камері при t° - 4°C , в режимі ~ 40 мА при 100 в. Електрофореграму фіксують у 5 % розчині оцтової кислоти протягом години та висушують. Денситометрію проводять на мікрофотометрі.

Запропоноване технічне рішення було апробоване в умовах ЦНДЛ Дніпропетровської державної медичної академії.

На відміну від прототипу, де виявляються фракції лише нормальної ліпідограми (ХМ, ЛПНП, ЛПОНП і ЛПВП), в умовах дійсної корисної моделі вдалося додатково встановити інтенсивність фракції ЛП(а), що зазвичай посилена присутністю мі-

норних підфракцій ЛП(а), ознаки ІІа, ІІб, ІV типів гиперліпопротеїнемії, у т.ч. більшу інтенсивність звичайних ліпідних фракцій ЛПВП, ЛПНН, ЛПОНП.

Використання запропонованого способу дозволяє виявити наявність інтенсивних мінорних фракцій ЛП, завдяки посиленню до них чутливості у гелі агарози. Від того виявлення додаткових мінорних фракцій ЛП інформує про збільшення точності способу, що сприяє збільшенню ефективності надання медичної допомоги.

Таким чином, запропоноване рішення задачі відповідає умові «промислової придатності», як таке, що може бути використаним в лабораторній практиці клінічних установ, з можливістю перевіршення вищенаведеного технічного результату на основі засобів, які стали відомими за подією пріоритету та поєднаними з рішенням поставленої задачі. При цьому характеристика заявленого способу, що зазначена у формулі, визначає відмінність його від об'єктів аналогічного призначення і допускає можливість набуття правового статусу як корисної моделі процесу.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 62239 (13) U

(51) МПК (2011.01)
G01N 33/483 (2006.01)
G01N 33/49 (2006.01)
G01N 21/00
G01N 21/59 (2006.01)
G01N 21/956 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ b-ЛІПОПРОТЕЇДІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ

1

2

(21) u201014310

(22) 30.11.2010

(24) 25.08.2011

(46) 25.08.2011, Бюл.№ 16, 2011 р.

(72) ДЗЯК ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІДОВИЧ, БЕЛОЗУБ ВОЛОДИМИР ВОЛОДИМИРОВИЧ, КОШЕЛЄВ ОЛЕГ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, ХАРАПОНТОВА ОЛЕНА БОРИСІВНА
(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

(57) Спосіб визначення концентрації b-ліпопротеїдів у сироватці крові, що включає забір проби крові натще, відділення сироватки від суспензії еритроцитів шляхом центрифугування проби, взяття в пробірку 0,2 моль сироватки, додавання до неї 2 моль 0,28 % розчину хлористого кальцію, перемішування суміші, додавання 0,04

моль гепарину активністю 1000 од/моль і визначення концентрацій b-ліпопротеїдів, який **відрізняється** тим, що концентрацію b-ліпопротеїдів визначають шляхом візуалізації послідовності паралельних чорних і білих смуг різної товщини, відображених на рівновіддаленні на поверхні носія, що накладається позаду пробірки, при цьому встановлюють, що концентрація b-ліпопротеїдів у сироватці відповідає нормі, якщо через пробірку з розчином проглядають усі смуги, або її перевищення на 10-15 %, якщо через пробірку з розчином проглядають лише товсті смуги, або її перевищення понад 16 %, якщо через пробірку з розчином не проглядають усі смуги, за умови, що товщини тонких і товстих смуг становлять 0,8-1,1 мм та 1,5-1,8 мм відповідно.

Корисна модель належить до аналізу біологічних матеріалів, переважно, крові, здійснюваного шляхом оцінки пропускних властивостей рідини за допомогою зображень, що накладаються, та може бути використана у лабораторній практиці медичних установ.

Відомі способи дослідження вмісту ліпопротеїдів (ЛП) у сироватці крові, які ґрунтуються на поділі ЛП у гелі агарози на фракції, в електрофоретичних умовах: Пат. РФ № 2060034, № 2115121 тощо. Недоліками відомих технічних рішень є змала чутливість засобів детекції b-лфпопротеїдів і решти фракцій останніх, неприйнятні тривалість і вартість досліджень, із-за необхідності використання лабораторного устаткування, що стримує застосування скринінгових методик на перших стадіях обстеження.

Більш наближеним до дійсної корисної моделі є спосіб визначення концентрації b-лфпопротеїдів у сироватці крові, що включає забір проби крові натще, відділення сироватки від суспензії еритроцитів шляхом центрифугування проби, взяття в

пробірку 0,2 моль сироватки, додавання до неї 2 моль 0,28 % розчину хлористого кальцію, перемішування суміші, додавання 0,04 моль гепарину активністю 1000 од/моль, а після випадання b-лфпопротеїдів в осад вимірювання екстинкції суміші за допомогою фотоелектроколориметра та розрахунок концентрацій b-лфпопротеїдів на основі вимірюваних параметрів. Відомий турбідиметричний метод ґрунтується на властивості b-лфпопротеїдів сироватки випадати в осад під впливом гепарину, де ступінь його помутніння суміші є пропорційним до вмісту b-лфпопротеїдів у сироватці, що піддається інструментальній фотоелектроколориметрії (Строев Е.А. Практикум по биологической химии. - М.: «Высшая школа», 1986. - 126 с.). Недоліком прототипу залишаються висока тривалість і неприйнятна вартість дослідження, що, як і у попередньому випадку, стримує можливість застосування скринінгових методик на перших стадіях обстеження, особливо в умовах лікувальних установ, які недостатньо оснащені лабораторним обладнанням.

До основи дійсної корисної моделі поставлена задача винайти спосіб визначення концентрації б-ліпопротеїдів у сироватці крові, застосування якого сприяло б шляхом оцінки ступеня помутніння суміші, за допомогою накладеного зображення, реалізації експрес-властивостей та зниженню собівартості дослідження.

Поставлена задача вирішується тим, що при використанні у відомому способі визначення концентрації б-ліпопротеїдів у сироватці крові, що включає забір проби крові натще, відділення сироватки від суспензії еритроцитів шляхом центрифугування проби, взяття в пробірку 0,2 моль сироватки, додавання до неї 2 моль 0,28 % розчину хлористого кальцію, перемішування суміші, додавання 0,04 моль гепарину активністю 1000 од/моль і визначення концентрацій б-ліпопротеїдів, відповідно до корисної моделі, концентрацію б-ліпопротеїдів визначають шляхом візуалізації послідовності паралельних чорних і білих смуг різної товщини, відображених на рівновіддаленні на поверхні носія, що накладається позаду пробірки, при цьому встановлюють, що концентрація б-ліпопротеїдів у сироватці відповідає нормі, якщо через пробірку з розчином проглядають усі смуги, або її перевищення на 10-15 %, якщо через пробірку з розчином проглядають лише товсті смуги, або її перевищення понад 16 %, якщо через пробірку з розчином не проглядають усі смуги, за умови, що товщини тонких і товстих смуг становлять 0,8-1,1 мм та 1,5-1,8 мм відповідно.

Причинно-наслідковий зв'язок сукупності відмітних ознак запропонованого способу визначення концентрації б-ліпопротеїдів у сироватці крові з вищезазначеним технічним результатом полягає в наступному.

Визначення концентрації б-ліпопротеїдів шляхом візуалізації послідовності паралельних чорних і білих смуг різної товщини, відображених на рівновіддаленні на поверхні носія, що накладається позаду пробірки, допускає оцінку ступенів помутніння розчину без використання фотоелектроколориметра і розрахунку концентрацій б-ліпопротеїдів, що суттєво знижує собівартість, підвищує оперативність дослідження, а набуті експрес-властивості дозволяють відтворювати екранінгові методики на ранніх етапах лікування.

Послідовність рівновіддалених чорних і білих смуг, відображених на поверхні носія, надає інформацію, придатну для експрес-зчитування (ідентифікації) каламутності або пропускних властивостей розчину. Використання смуг різної ширини сприяє диференціюванню кінцевого результату, прийняттого за точністю для ранніх етапів діагностики й лікування.

Експериментально підібрані товщини тонких і товстих смуг, які дорівнюють 0,8-1,1 мм і 1,5-1,8 мм відповідно, є оптимальними для ідентифікації каламутності розчину й достатніми для диференціювання концентрацій б-ліпопротеїдів на пропорційній основі, без використання фотоелектроколориметра, в умовах високої оперативності.

Отже, сукупність запропонованих відмітних ознак заявленої корисної моделі, задіяних до вирішення поставленої задачі і досягнення технічно-

го результату, є суттєвою, характеризує затребуваний обсяг правового захисту здійснюваного процесу, характеризує його «новим» і поширюється на усі випадки його багаторазового використання.

Для здійснення способу залучають паперовий носій, з нанесеною на нього послідовністю паралельних чорних і білих смуг товщиною 0,8-1,1 мм і 1,5-1,8 мм відповідно. Для нанесення таких смуг зазвичай застосовують сублимаційний принтер, який при друкуванні чорних смуг на рівновіддаленні допускає реалізацію їх чорної-білої послідовності.

Концентрацію б-ліпопротеїдів у сироватці визначають після забору проби крові натще, відділення її від суспензії еритроцитів шляхом центрифугування проби. До 0,2 моль сироватки, взятій в пробірку, додають 2 моль 0,28 % розчину хлористого кальцію та 0,04 моль гепарину з активністю 1000 од/моль, після перемішування суміші. Для візуалізації послідовності паралельних чорних і білих смуг, відображених на поверхні паперового носія, останній накладають позаду. Концентрацію б-ліпопротеїдів у сироватці констатують нормальною, якщо через пробірку з розчином проглядають усі смуги, її перевищення на 10-15 %, якщо через пробірку з розчином проглядають лише товсті смуги, або її перевищення понад 16 %, якщо через пробірку з розчином не проглядають будь-які смуги, за умови, що товщини тонких і товстих смуг становлять 0,8-1,1 мм і 1,5-1,8 мм відповідно.

Отже, оцінка ступеня помутніння суміші за допомогою накладеного зображення надає способу експрес-властивості (підвищує оперативність) і знижує собівартість дослідження, завдяки виключенню з використання фотоелектроколориметра, що дозволяє відтворювати його у скринінгових методиках на ранніх етапах діагностики та лікування.

Пропонований спосіб був апробований на базі ЦНДЛ ДДМА. Орієнтовну концентрацію б-ліпопротеїдів знаходили на основі візуальної оцінки каламутності розчину сироватки шляхом зчитування видимості штрихів, нанесених заданим чином на носій, що підкладається.

Концентрації б-ліпопротеїдів визначали експрес-шляхом у розчинах сироватки, виділеної з крові хворих на хронічні захворювання органів черевної порожнини. Для оцінки концентрацій б-ліпопротеїдів використовували паперовий носій з нанесеними на нього чорними і білими смугами (товщиною 0,8-1,1 мм та 1,5-1,8 мм відповідно). Пробірки з розчинами сироватки розташовували перед зображенням штрихів, впритул до їхнього носія. Концентрацію б-ліпопротеїдів у сироватці вважали нормальною, якщо візуалізовували усі смуги на носії, або перевищеною на 10-15 %, якщо через пробірку з розчином проглядали лише товсті смуги, або перевищеною більше ніж на 16 %, якщо через пробірку з розчином не проглядали усі смуги.

Пропонований спосіб простий у використанні, тому що для його здійснення не потрібні застосування дорогого дослідницького лабораторного устаткування, розрахункові операції. Він може бути застосованим в лабораторії будь-якої технічної

оснащеності. Дозволяє оперативно визначати орієнтовну концентрацію b-лфпроптеїдів у великій кількості обстежуваних хворих при диспансеризації чи профоглядах, надає можливість оцінити інтенсивність патологічного процесу.

Таким чином, запропоноване рішення задачі відповідає умові «промислова придатність», як таке, що може бути використаним у лабораторній

практиці медичних установ з можливістю перевіршення вищенаведеного технічного результату. При цьому характеристика заявленого способу, що зазначена у формулі, визначає відмінність його від об'єктів аналогічного призначення і допускає йому набуття правового статусу як корисної моделі процесу.

Шостакович-Корецька Людмила Романівна

Педіатр, доктор медичних наук, 1945 року народження. У 1968 р. закінчила педіатричний факультет ДМІ. У 1975 р. захистила кандидатську дисертацію "Стан еритрокінетики при хронічній пневмонії у дітей", у 1990 р. - докторську "Клініко-патогенетичне значення дефектів біологічної регуляції при бронхіальній астмі у дітей".

До 1994 р. працювала асистентом та доцентом кафедри дитячих хвороб-3, а з 1990 р. - професором кафедри дитячих хвороб, у 1994 р. очолила її колектив. У 1996 р. кафедра дитячих інфекційних хвороб об'єднана із кафедрою факультетської педіатрії і Людмила Романівна призначена за конкурсом її завідуючою.

З 2002 по 2007 рік була деканом ІІ медичного факультету ДДМА. З 2001 по 2005 рік – головний науковий співробітник ЦНДЛ.

Людмила Романівна – заступник голови спеціалізованої вченої ради за фахом педіатрія. Під її керівництвом захищено 4 кандидатські дисертації, 4 дисертації виконуються в цей час. Автор понад 350 наукові праці, у тому числі патентів, інформаційних листів, методичних рекомендацій.

Має Подяку Кабміну України (2009 р.), Подяку МОЗ України (2009 р.), Грамоту Асоціації інфекціоністів України за вагомі досягнення в лікувально-профілактичній науковій праці в сфері інфекційних хвороб (2010 р.), отриманий Грант CRDF за наукову діяльність (2009 р.).



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **62240** (13) **U**
(51) **МПК (2011.01)**
A61K 39/00

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОФІЛАКТИКИ ПЕРИНАТАЛЬНОЇ ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ

1

(21) u201014315

(22) 30.11.2010

(24) 25.08.2011

(46) 25.08.2011, Бюл.№ 16, 2011 р.

(72) ШОСТАКОВИЧ-КОРЕЦЬКА ЛЮДМИЛА РО-
МАНІВНА, ДЗЯК ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, ХОЖИ-
ЛО ІРИНА ІВАНІВНА, ДРОЗДОВ ОЛЕКСІЙ ЛЕОНІ-
ДОВИЧ

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА
АКАДЕМІЯ

(57) Спосіб профілактики перинатальної ВІЛ-
інфекції, що включає здійснення антиретровірус-

2

ного впливу зідовудином, як інгібітором нуклеози-
дної зворотної транскриптази, на жінку з 36 тижня
вагітності, з розрахунку по 300 мг двічі на добу, та
під час пологів - по 300 мг кожні 3 години, а також
здійснення антиретровірусного впливу на немовля
в перші 72 години життя у заданому дозовому ре-
жимі, який **відрізняється** тим, що антиретровірус-
ний вплив на немовля здійснюють вірамуном, як
нуклеозидним інгібітором зворотної транскрип-
тази, у одноразовій кількості 2 мг/кг.

Корисна модель належить до медицини, зде-
більшого до ліків та медикаментів для терапевти-
чних цілей, насамперед, до використання препа-
ратів, які містять антитіла або антигени, і може
бути використаною в імунології, вірусології, пери-
натології, акушерстві, гінекології тощо.

Відомий спосіб профілактики перинатальної
ВІЛ-інфекції, що включає здійснення антиретрові-
русного впливу інгібітором нуклеозидної зворот-
ної транскриптази на жінку та її немовля у задані
терміни при оптимальних дозових режимах, при
цьому як інгібітор нуклеозидної зворотної транск-
риптази застосовують невірапін, який вводять
жінці інтранатально під час пологів, а дитині - пос-
тнатально під час грудного вигодовування, у одно-
разових дозах по 200 мг та 2 мг/кг відповідно [1].
Позитивний результат від застосування способу
ґрунтується на антиретровірусній дії препарату, а
особливий інтерес становить той факт, що інгібі-
тор нуклеозидної зворотної транскриптази на
деякий термін забезпечує високий рівень циркуля-
ції, а від того дає можливість вживати його в одній
дозі під час пологів.

Проте, виробіток стійкості вірусу до невірапіну
при антиретровірусному впливі запобігає високій
ефективності профілактики передачі вірусу від
матері до дитини.

Найбільш приближеним по кількості істотних
ознак до корисної моделі, що заявляється, є спосіб
профілактики перинатальної ВІЛ-інфекції, що
включає здійснення антиретровірусного впливу на

жінку зідовудином, як інгібітором нуклеозидної
зворотної транскриптази, по 300 мг кожні 3 години
під час пологів, та її немовля в перші 72 години
життя, у заданому дозовому режимі [1].

Більш висока фармакологічна активність зідо-
вудину дещо зменшує ризик виникнення вертика-
льної трансмісії перинатальної ВІЛ-інфекції, але
моновекторний характер інгібіції зворотної транск-
риптази у матері та немовля стримує досягнення
очікуваного технічного результату.

В основу корисної моделі поставлено задачу
розробити такий спосіб профілактики перинаталь-
ної ВІЛ-інфекції, який шляхом різновекторної інгі-
біції зворотної транскриптази забезпечує підви-
щення ефективності при використанні.

Поставлена задача вирішується тим, що при
здійсненні відомого способу профілактики перина-
тальної ВІЛ-інфекції, що включає здійснення анти-
ретровірусного впливу зідовудином, як інгібітором
нуклеозидної зворотної транскриптази, на жінку з
36 тижня вагітності, з розрахунку по 300 мг двічі на
добу та під час пологів - по 300 мг кожні 3 години,
а також здійснення антиретровірусного впливу на
немовля в перші 72 години життя, у заданому до-
зовому режимі, відповідно до корисної моделі,
антиретровірусний вплив на немовля здійснюють
вірамуном, як нуклеозидним інгібітором зворот-
ної транскриптази, у одноразовій кількості 2 мг/кг.

Використання інгібіторів нуклеозидної (зідову-
дин) і нуклеозидної зворотної транскриптази
(вірамуно) для антиретровірусної профілактики

спрямоване на забезпечення різновекторної інгібіції перинатальної ВІЛ-інфекції з досягненням сприятливих характеристик безпеки. При цьому використання комбінованих заходів разом із режимом і термінами їх застосування виявилось більш ефективним, насамперед за рахунок досягнення більшого рівня зниження вірусного навантаження. Сукупність заявлених ознак запропонованого рішення задачі запобігає порушення імункомпетентних клітин і неадекватну відповідь на антигени, у вигляді гіпер- чи гіпопродукції антитіл, а від того зменшує концентрацію ВІЛ-антитіл, у відповідь на реплікацію вірусу імунodefіциту людини.

Залучення до комбінації зідовудину та віраму-ну у заданому дозовому режимі запропоновано вперше. Зідовудин, як представник групи нуклеозидних інгібіторів зворотної транскриптази, сприяє гальмуванню синтезу вірусної ДНК, завдяки конкуренції з транскриптазою ВІЛ як в імунній системі вагітної жінки, наприклад з 36 тижня, так і плоду, та пролонгує цим термін впливу нуклеозидного інгібітора. Разом із цим, віраму-н, як нуклеозидний інгібітор зворотної транскриптази, зв'язується з її ферментом, руйнує останній та блокує синтез ДНК перинатальної ВІЛ-інфекції в організмі немовля у подальшому.

Тож, деформація зворотної транскриптази на ранньому етапі розвитку плоду знижує вірусне навантаження на його імунну систему разом із стійкістю вірусу до віраму-ну, а відтак зменшує ризик виникнення вертикальної трансмісії перинатальної ВІЛ-інфекції та інформує про підвищення ефективності її профілактики, наприклад на 93,3 %. Але спостерігалось, що двократний добовий вплив зідовудино-м, по 300 мг в кожній дозі, з 36 тижня вагітності жінки, і віраму-ном, в одноразовій кількості 2 мг/кг, на немовля, були найбільш оптимальними, бо не погіршували ефективності блокування синтезу вірусної ДНК, межували з отриманням сприятливих характеристик безпеки та забезпечували сприятливу ретроспективу циркуляції одноразової дози віраму-ну в цій комбінації.

Отже, сукупність ознак корисної моделі є суттєвою, оскільки має причинно-наслідковий зв'язок з очікуваним технічним результатом. Крім того, наведені твердження інформують про те, що спосіб профілактики перинатальної ВІЛ-інфекції відповідає критерію «новизна», бо не впливає явним чином з рівня техніки, який був встановлений заявником.

Додаткові переваги заявленого вирішення задачі над прототипом полягають в прискоренні зниження материнських антитіл і можливості верифікації ВІЛ-статусу у новонароджених.

На кресленні надана діаграма динаміки процесів елімінації ВІЛ-антитіл у дітей на тлі антиретровірусної хіміопрофілактики перинатальної ВІЛ-інфекції досліджуваної груп її носіїв.

Спосіб профілактики перинатальної ВІЛ-інфекції реалізують у наступній послідовності.

З 36 тижня вагітності жінці призначають зідовудин у кількості 300 мг двічі на добу. Під час пологів антиретровірусну профілактику зідовудино-м продовжують, уводячи його по 300 мг кожні 3 го-

дини, блокуючи синтез вірусної ДНК. Для блокування синтезу ДНК перинатальної ВІЛ-інфекції в імунній системі немовля в перші 72 години його життя одноразово вводять віраму-н у кількості 2 мг/кг. У відповідності з цим комплексний вплив різновекторними нуклеозидними і нуклеозидними інгібіторами дозволяє запобігти передачу ВІЛ від матері до дитини, а саме – знизити виникнення ризику вертикальної трансмісії перинатальної ВІЛ-інфекції більше, ніж на 93 %.

Для експериментальної перевірки можливості відтворення способу та підтвердження технічного результату, що заявляється, внаслідок використання комбінації противірусних препаратів з різними механізмами патогенетичної дії були обстежені 30 ВІЛ-інфікованих вагітних та їх дітей. Усі досліджувані були розподілені на 2 групи порівно. Жінки та діти I групи отримували противірусні препарати, а в II контрольній групі противірусна профілактика не провадилася. Обстеження груп вагітних і дітей включало клінічні та біохімічні дослідження. У сироватці крові імунферментним шляхом визначали наявність і кількість збудників СНІД-асоційованих інфекцій, наприклад, пневмоцистозу, цитомегаловірусу, токсоплазмозу тощо. Оцінку імунного статусу здійснювали за показниками клітинного та гуморального імунітету шляхом розеткоутворення та радіальної імунодифузії в агарі. Характер бактеріальних інфекцій визначали при дослідженні патогенних бактерій та грибків висівів із ротової порожнини, носу та кишечника. Обстеження новонароджених включало визначення ВІЛ статусу при дослідженні ВІЛ антитіл у пуповинній крові імунферментним шляхом. Верифікацію діагнозу ВІЛ-інфекції у матері та дитини проводили в умовах референт-лабораторії Київського НДІ епідеміології та інфекційних хвороб, в період народженості немовля, через 6, 9, 12 і 18 місяців. Результати досліджень обробляли шляхами варіаційної та непараметричної статистичної обробки з використанням загальновідомих критеріїв Ст'юдента, Вілкоксона-Манна-Уїтні та Фішера. Ефективність запропонованого вирішення задачі оцінювали за динамікою клітинно-лабораторних і антропометричних показників.

Антиретровірусну хіміопрофілактику перинатальної ВІЛ-інфекції розпочинали у жінок I групи з 36 тижня вагітності. Вводили зідовудин у кількості 300 мг двічі на добу у період вагітності, а під час пологів – по 300 мг кожні 3 години. Новонароджені діти з I групи отримували одноразові 2 мг/кг дози віраму-ну в перші 72 години життя.

Після проведення комплексу вищезазначених заходів клінічні симптоми та лабораторні маркери гострого періоду СНІД-асоційованих хвороб (токсоплазмоз, пневмоцистоз, прогресування цитомегаловірусної інфекції) у дітей були відсутні. Спостерігалось, що після антиретровірусної хіміопрофілактики рівень ВІЛ-антитіл в сироватці крові був суттєво зниженим. Як свідчить надана діаграма, рівень антитіл, що був виявлений у дітей віком до 12 місяців з I групи та підтверджений в остаточній верифікації ВІЛ-статусу на 12 місяці, поступово зникав в динаміці часу, внаслідок здійснення комплексу запропонованих профілактичних

заходів. Після 18 місяців ВІЛ-негативні тести показали що лише у 6,7 % носіїв ВІЛ блокування синтезу ДНК перинатальної ВІЛ-інфекції не відбулося. Втім, у дітей з паралельної групи елімінація ВІЛ-антитіл відбулася після 18 місяців життя, а вертикальне інфікування від матері було встановлене серед них у 26,7 % випадків.

Дослідження гуморального імунітету народжених дітей від ВІЛ-інфікованих матерів, дозволило встановити достовірну різницю імуноглобулінів М і статистично незначущі відмінності концентрацій імуноглобулінів А в обох групах, а індекс імуносупресії (Т-хелпери / Т-супресори) також мав достовірні різниці в групах та не відрізнявся від показників здорових дітей відповідного віку.

Отже, порівняння результатів ефективності профілактики перинатальної ВІЛ-інфекції за умов заявленого способу, що реалізується шляхом різновекторної інгібіції зворотної транскриптази за рахунок застосування препаратів нуклеозидного і нуклеотидного типів (з різними механізмами патогенетичної дії), відомих на дату пріоритету, та відомих з рівня техніки об'єктів-аналогів дозволило дійти до висновку, що запропоноване рішення задачі запобігає передачу ВІЛ від матері до дитини більше, ніж у 93 % випадків (див. таблицю), що разом із можливістю його використання в імунології, вірусології, перинатології, акушерстві та гінекології інформує про відповідність критерію «промислова придатність».

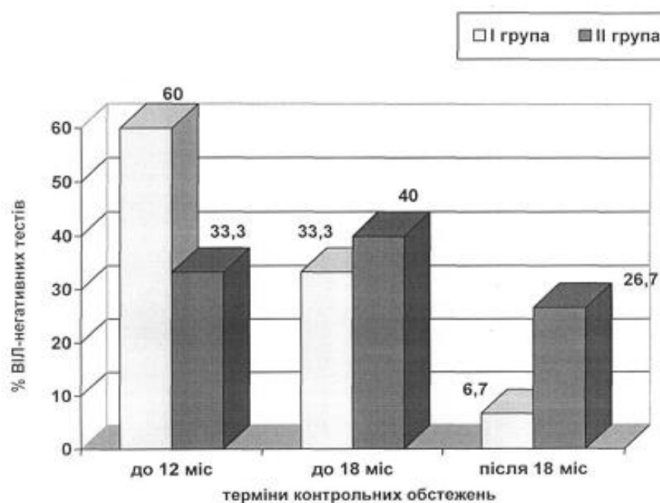
Таблиця

Порівняння результатів профілактики перинатальної ВІЛ-інфекції

Засоби профілактики	Об'єкти та схеми профілактики			Ефективність, %
	жінка		немовля	
	під час вагітності	під час пологів		
1	2	3	4	5
Ніверопін	-	+	+	50,0
Зідовудин	+	+	+	51,0
Зідовудин	+	+	-	93,3
Вірамон	-	-	+	

Джерела інформації:

1. О. Быцало. Эпидемия ВИЧ в Украине // Здоровье Украины. - 2002. - № 11 - 22с.



Свідоцтва про реєстрацію авторського права на твір

	Назва твору	Номер свідоцтва Дата подачі	Автори
1.	Анатомія пам'яті. Атлас схем і рисунків провідних шляхів і структур нервової системи, що беруть участь у процесах пам'яті.	№ 13822 від 08.08.05	Дроздов О.Л., Дзяк Л.А., Козлов В.О., Маковецький В.Д.
2.	Ренальні ефекти похідних вазопресину	№ 13821 від 08.08.05	Дроздов О.Л. Кошелев О.С., Дзяк Г.В., Папсуєвич О.С.
3.	Пептиды вазопрессинного ряда и поведение	№32581. від 30.03.2010	Громов Л.О., Дзяк Г.В., Дроздов О.Л., Крауз В.О.
4.	Современные представления о биологических свойствах лецитина	№ 33968 від 30.03.2010	Дзяк Г. В., Шульга С. М., Глух І. С., Глух А. І., Кошелев О.С., Кравець В. М., Куделя І. В.
5.	Значение прямой региональной лимфотропной терапии в постоперационном лечении хронического одонтогенного остеомиелита нижней челюсти	№ 36555 від 01.11.2010	Дроздов О. Л., Комський М.П., Кошелев О. О., Скаковська О. І.

6.	Изменение местных проявлений гнойновоспалительных заболеваний нижней челюсти в процес се послеоперационного лечения	№ 36556 від 01.11.2010	Комський М.П., Дроздов О. Л., Кошелев О. О., Скаковська О. І.
7.	Современные представления о биологических свойствах лецитина	№ 36552 від 01.11.2010	Дзяк Г. В., Дроздов О. Л., Шульга С. М., Глух А. І., Глух І. С.
8.	Фармакотерапия экспериментального психоза	№ 36557 від 01.11.2010	Дроздов О. Л., Зубковська Г. Г., Кушнір А. М., Кошелев О. О., Кривошапов О.В.
9.	Схема «Биологические эффекты витаминов А»	№ 39574 від 10.08.2011	Дроздов О. Л.
10.	Схема «Механизм действия витамина С»	№ 39575 від 10.08.2011	Дроздов О. Л.
11.	Схема «Биологические эффекты витаминов D»	№ 39576 від 10.08.2011	Дроздов О. Л.
12.	Методичний посібник «Характеристика поливитаминовых препаратов для парентерального питания»	№ 39573 від 10.08.2011	Дзяк Г. В., Дроздов О. Л., Кошелев О. С., Лозовик О. М.